

T. C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

RATLARDA KARDİYAK İSKEMİ/REPERFÜZYON
HASARINDA DEKSMEDETOMİDİN VE KETAMİNİN
ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ
DR. LEYLA GÜLER

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. FÜSUN BOZKIRLI

ANKARA
HAZİRAN 2012

TEZ TUTANAĞI

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Leyla Güler'in **“Ratlarda Kardiyak İskemi/Reperfüzyon Hasarında Deksmetomidin ve Ketaminin Etkilerinin Karşılaştırılması”** konulu uzmanlık tezi anabilim dalımızda incelendiğinde; 2 sayfa giriş, 48 sayfa genel bilgiler, 13 sayfa gereç ve yöntem, 7 sayfa bulgular, 10 sayfa tartışma, 2 sayfa sonuç ve 2 sayfa özetten oluştuğu saptanmıştır.

Adı geçen araştırma görevlisi tarafından hazırlanan ve 15.6.2012 tarihinde teslim edilen tez, aşağıda adı yazılan tez değerlendirme jüri üyeleri tarafından incelenerek oy birliği ile **“uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.”**

BAŞKAN

Prof. Dr. Mehmet AKÇABAY

Anesteziyoloji ve Reanimasyon

Anabilim Dalı Başkanı

ÜYE

Prof. Dr. Füsun BOZKIRLI

Anesteziyoloji ve Reanimasyon

Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Tez Danışmanı

ÜYE

Doç. Dr. Yusuf ÜNAL

Anesteziyoloji ve Reanimasyon

Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

İÇİNDEKİLER

Tez Tutanağı	i
İçindekiler	ii
Tablolar	iv
Şekiller	iv
Resimler	v
Simgeler ve kısaltmalar	v
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İskemi fazı	3
2.2. Reperfüzyon fazı	5
2.3. İskemi/reperfüzyon hasarından korunma yöntemleri	7
2.4. İnflamatuar mediyatörler	7
2.4.1. Kompleman sistemi	9
2.4.2: Serbest Radikaller	11
2.4.2.1. Hücrelerde radikal oluşumu	13
2.4.2.2. Hücrelerde hasar oluşumu	15
2.4.2.3. Radikallere karşı savunma sistemleri	23
2.4.3. Sitokinler	26
2.4.3.1. Tümör nekrozis faktör (TNF)	27
2.4.3.2. İnterlökinler	29
2.5. Miyokardiyal iskemi/reperfüzyon (I/R)	31

2.6.	No-reflow fenomeni	34
2.7.	Miyokardiyal stunning (sersemleme)	34
2.8.	Miyokardiyal hibernasyon	35
2.9.	Adrenerjik reseptörlerin farmakolojik özellikleri	36
2.10.	Deksmedetomidin	36
2.11.	Ketamin	43
2.12.	Hayvan deneylerinde ratların kullanımı	49
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	51
3.1.	Denek seçimi	51
3.2.	Kullanılan yöntem	51
3.3.	Biyokimyasal analizler	57
3.4.	İstatistiksel Yöntem	63
4.	BULGULAR	64
5.	TARTIŞMA	71
6.	SONUÇ	81
7.	KAYNAKLAR	83
8.	ÖZET	99
9.	SUMMARY	100
10.	ETİK KURUL ONAYI	101
11.	ÖZGEÇMİŞ	102

TABLOLAR

Tablo 1: Oksijen bileşikleri	13
Tablo 2: Serbest oksijen radikallerinin kaynakları	15
Tablo 3: Major endojen antioksidanlar ve etkileri	24
Tablo 4: Miyokardiyal stunning ve hibernasyon arasındaki farklar.....	36
Tablo 5: α -2 agonist etkiye sahip ilaçlar	37
Tablo 6: Ratların genel fizyolojik bilgileri	64
Tablo 7: Ratların ağırlık verileri	64
Tablo 8: Grupların kalp atım hızı değerleri	65
Tablo 9: Grupların sistolik arter basıncı (SAB) değerleri	66
Tablo 10: Grupların diyastolik arter basıncı (DAB) değerleri	67
Tablo 11: Grupların ortalama arter basıncı (OAB) değerleri	68
Tablo12: Ratların kalp dokusunda oksidan durum parametreleri.....	69
Tablo 13. Ratların kalp dokusunda IL-1 β ve TNF- α verileri	70

ŞEKİLLER

Şekil 1: İskemi fazı	5
Şekil 2: Reperfüzyon fazı	6
Şekil 3: Deksmetomidin hidroklorürün kimyasal yapı.....	37
Şekil 4: Ketaminin enantiyomerleri; S-(+), R-(-) ketamin	43

RESİMLER

Resim 1: Mekanik ventilatör	52
Resim 2: Ratın trakeostomi ve torakotomi sonrası görüntüsü	53
Resim 3: EKG, invaziv arter, SpO ₂ ve rektal ısı görüntüsü.....	53
Resim 4: Perfusor® Compact Syringe Pump Braun Melsungen A ...	54
Resim 5: LAD oklüzyonu görülen ciddi renk değişikliği	55
Resim 6: Evans mavisi verildikten sonra I/R'dan etkilenen boyanmamış alan ve non-iskemik alanın görünümü	56
Resim 7: Reperfüzyon sonrasında ekstrakte edilen rat kalbi	57
Resim 8: Reperfüzyon sonrasında ekstrakte edilen rat kalp sol ventrikülünün enine kesiti	57

SİMGELER ve KISALTMALAR

ATP	: Adenozin trifosfat
CABG	: Koroner arter baypas cerrahisi
DAB	: Diyastolik arteriyel basınç
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon Peroksidaz
GSSH	: Yükseltgenmiş glutatyon
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
IL	: İnterlökin
IM	:İntramusküler

IP	: İntraperitoneal
I/R	: İskemi/Reperfüzyon
MDA	: Malondialdehit
Na⁺-K⁺ ATP'az	: Sodyum-Potasyum Adenozin trifosfataz
NMDA	: N-metil-D-aspartat
O₂[·]	: Süperoksit
OAB	: Ortalama arteriyel basınç
SAB	: Sistolik arteriyel basınç
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TNF	: Tümör nekrozis faktör

1.GİRİŞ

İskemik kalp hastalığı, en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biri olarak güncelliğini korumaktadır. Gelişmiş ülkelerde her yıl meydana gelen ölümlerin yaklaşık yarısı kalp-damar sistemi ile ilgili sorunlardan kaynaklanmaktadır.

En sık görülen şekli “koroner aterosklerotik kalp hastalığı” denilen ve aterosklerotik plaklara ve vazospazma bağlı olarak miyokardı besleyen koroner kan akımının klinik ve patolojik belirti verecek kadar azalmış olduğu durumdur. İskemi/reperfüzyon (I/R) hasarı, anjina pectoris, miyokard enfarktüsü (MI), serebral iskemi, trombotik stroke, hemorajik şok ve organ transplantasyonu gibi cerrahi girişimler ve trombolitik tedaviye bağlı oluşan patofizyolojinin temelidir. İskemi, bir organın damar yatağında bulunan bir ya da daha fazla sayıdaki arterde kan akımının kısmen veya tamamen kesilmesi sonucu oluşan tablodur. İskemiye maruz kalan alandaki hücre veya dokular anaerobik metabolizma yoluyla gerekli enerjiyi sağlamaya çalışırlar. Anaerobik metabolizma sonucu oluşan metabolitler doku perfüzyonu olmadığından dokuda birikir. Hipoksi devam ederse intrasellüler asidozis oluşur. Hücre zarındaki Adenozin trifosfat (ATP) bağımlı Sodyum - Potasyum Adenozin Trifosfataz (Na-K ATP'az) pompasındaki yetmezlik sonucu hücre içine kalsiyum iyonu (Ca^{++}), sodyum iyonu (Na^{+}) ve beraberinde su (H_2O) girmesi sonucu transmembran permeabilitede değişiklikler meydana gelir. İskemi sonrasındaki reperfüzyon, inflamatuvar yanıt ile ilişkili intrasellüler adhezyon

molekölü-1 (ISAM-1), interlökin 1-beta (IL-1 β), IL-8, tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) gibi birçok transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu tetikler.

Reperfüzyon sonrası kan akımının normale döndürülmesi ile metabolitlerin oksidasyonu sonucu oluşan maddeler dolaşıma karışır ve sistemik dolaşım ile tüm vücuda yayılır.⁽¹⁾

İskemik sahaya oksijenin ulaşması sonucu oluşan toksik maddelerden en önemlileri serbest oksijen radikalleri (SOR)'dir.⁽²⁾ Normal sağlıklı koşullarda, SOR oluşumu ve koruyucu antioksidan mekanizmaların oluşan SOR'u organizmadan temizlemesi denge halindedir. SOR miktarındaki aşırı üretim, antioksidan savunma sistemleri tarafından ortadan kaldırılmaya çalışılır. Antioksidan savunma sistemleri yetersiz olursa SOR miktarı artar ve şiddetli reperfüzyon hasarı oluşur.

Intraoperatif düşük doz anestezi ajan kullanımı ve postoperatif etkili ağrı tedavisi, hastanın erken derlenmesini ve erken mobilize edilmesini sağlayarak çoğu kez postoperatif ventilasyon desteği gereksinimi ve pulmoner komplikasyonların sıklığını azaltmaktadır. Opioidler dışında, α -2 adrenerjik reseptör agonistlerinden deksmedetomidin ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti ketamin, dengeli anestezide analjezik adjuvan olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada ratlarda kardiyak iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarında ketamin ve deksmedetomidinin sistemik sitokin düzeyleri (IL-1 β , TNF- α) ve serbest oksijen radikalleri (malondialdehit (MDA), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), superoksit dismutaz (SOD))'ne olan etkilerinin karşılaştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

Son yıllarda kalp cerrahisi genellikle, kalbin kansız ve hareketsiz olduğu koşullarda daha güvenli yapılmaktadır. Kalp/akciğer pompası ile sağlanan bu kansız ve hareketsiz durum kalbin beslenmesini de durdurmaktadır. Cerrahi sırasında miyokardiyal iskemi sağlarken miyositlerde olumsuz etkiler ortaya çıkmaktadır. Kan akımı kesildikten yaklaşık 20 dakika (dk) sonra geriye dönüşümsüz miyokard hasarı oluşmaya başlar.⁽³⁾ İskemi/reperfüzyon hasarına en duyarlı hücreler; hücre zarının lipidleri, nükleik asitler, proteinler ve deoksiribonükleik asit (DNA) molekülleridir.⁽⁴⁾

2.1. İskemi fazı

Dokulara kan sağlayan damarların, pıhtı veya mekanik etkenle tıkanması sonucu dokunun beslenmesinin bozulmasına iskemi denir. İskeminin başlaması ile oksijen bağımlı hücreler (kardiyomiyositler, hepatositler, nöronlar, intestinal epitelyal hücreler, renal tübüler hücreler)'de hipoksik veya anoksik hasar oluşur. İskemi ve hipoksiste aerobik metabolizma devam edemediğinden mitokondrideki oksidatif fosforilasyon engellenir. Bunun sonucunda ATP, fosfokreatinin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır.⁽⁴⁾ Anaerobik glikoliz sonucu oluşan laktik asit ve hasarlanmış lizozomlardan salınan hidrojen (H^+) iyonu etkisiyle hücre içi pH düşer. ATP oluşumu yavaşlar ve durur. ATP azlığı, hücre zarında aktif Na^+-K^+ ATP'az pompasında yetmezliğe neden olarak hücre içinde Na^+ tutulmasına ve hücre dışına K^+ atılmasına neden olur. Solid madde birikimine izoosmotik su birikimi eşlik eder ve hücresel şişme meydana gelir. ATP sentezinin azalması

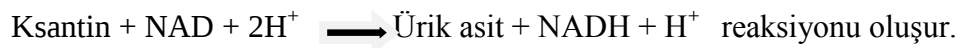
sonucu glikoliz aktivitesinin artmasıyla redüksiyon sistemleri aktive olur. Labil demir redükte formu artar. Hücre içi Na^+ artması sonucu Ca^{++} artar.⁽⁵⁾

Hücre içi Ca^{++} 'un artması, fosfolipazlar (fosfolipaz A_2), proteazlar (kalpainler) ve endonükleazlar gibi enzimleri aktiveleştirir. Fosfolipaz enzim aktivitesinin artması ile membran fosfolipidleri parçalanır ve katabolik ürünler birikir. Proteaz enzim aktivitesinin artması ile membran ve hücre iskelet proteinleri parçalanır. Endonükleaz enzim aktivitesinin artması ile nükleer kromatin hasarı meydana gelir. Hücre içi Na^+ miktarının, fosfolipaz ve proteaz aktivitesinin artması ve ATP sentezinin azalması sonucu plazma membran permeabilitesi artar. Mitokondri permeabilitesi de artar ve mitokondriyal membran potansiyeli kaybolur. Tüm bu olaylar neticesinde anoksik hasar, nekrotik hücre ölümüne neden olur.⁽²⁾ Hipoksida hücrelerde ATP üretiminin ciddi azalmasına karşı kullanımı devam ettiği için ADP ve adenozin oluşur.

Adenozin hücre dışına çıkar ve hipoksantine dönüşür.⁽⁶⁾

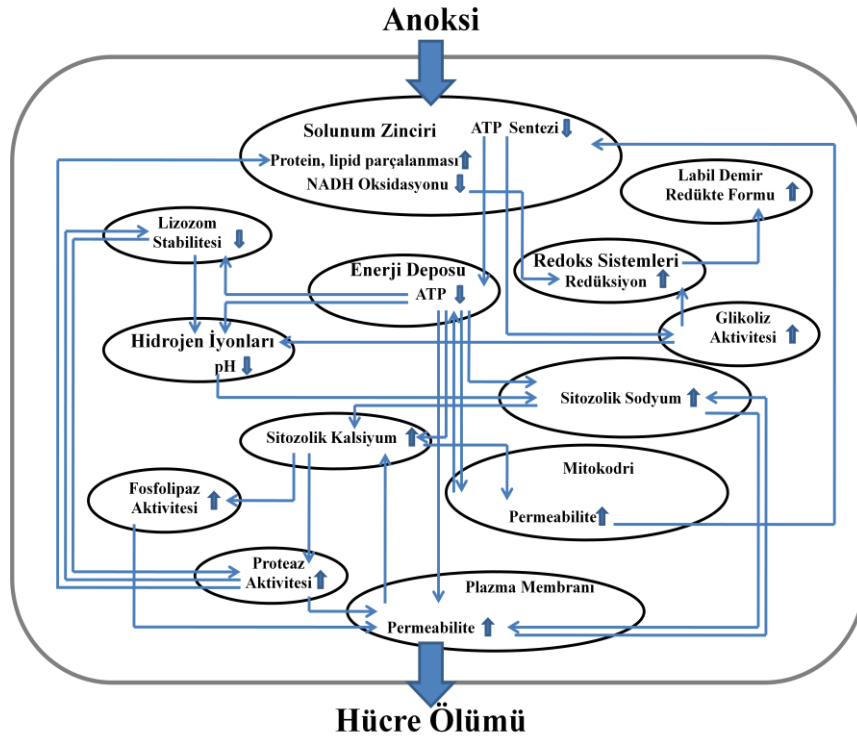


Hipoksi ya da iskemide, ortamda oksijen (O_2) olmadığı için;



Non-iskemik ortamda, ortamdaki O_2 nedeniyle;





Şekil 1: İskemi fazı⁽¹⁾

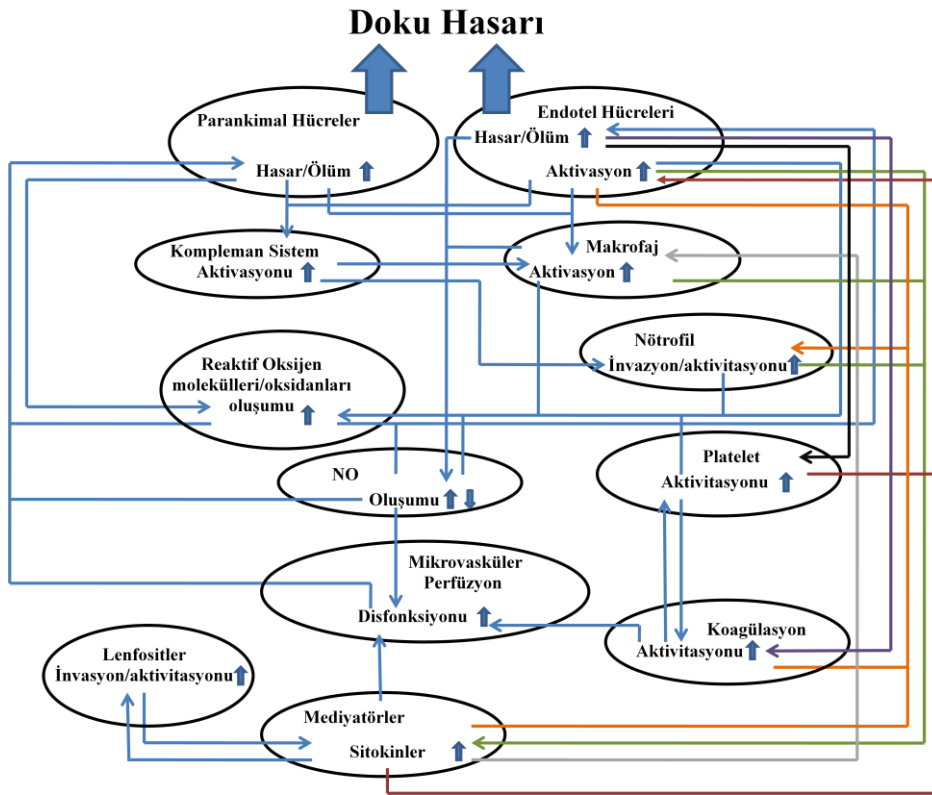
2.2. Reperfüzyon fazı

Reperfüzyon hasarı üzerine ilk çalışma, 1973 yılında Hearse ve arkadaşları (ark.) tarafından yapılmıştır.⁽⁷⁾ Bu çalışmada iskemik rat kalplerinde oksijene bağımlı enzim salınımının önemli rolü olduğu belirtilmiştir. Miyokard veya diğer hücrelerde iskemi sırasında oluşan toksik hasar oksijenin dokulara yeniden verilmesi ile daha da şiddetlenmektedir. Dokuya oksijen sunulması sonucu oluşan bu duruma oksijen paradoksu denir.⁽⁷⁾

İskemiye maruz kalan dokuda kan akımının yeniden sağlanmasıyla toksik metabolitler uzaklaştırılır. Ancak, ileri derecede toksik olan kısmen oksijenasyonu azalmış metabolitlerin sistemik dolaşıma geçmesi sonucu hücrenin membranı ve diğer yapılarında hasara neden olur.

İskemik dokuda artan oksijen radikalleri, kan akımı düzeldikten sonra reperfüzyon hasarına neden olur. Toksik oksijen türevlerinin büyük ölçüde reperfüzyon sırasında iskemi alanına infiltre olan polimorfonükleer lökosit (PNL) tarafından yapıldığı düşünülmektedir.⁽⁸⁾ Reperfüzyon oluşmazsa öldürücü iskemik hasar gelişir fakat toksik oksijen türevleri görülmez.

Reperfüzyonu takiben inflamatuvar yanıt meydana gelir.⁽⁹⁾ İnflamatuvar yanıtta endotel hücreleri, nötrofiller, makrofajlar, lenfositler, plateletler aktive olur. Koagülasyon kaskatının aktivasyonu ve mediatörlerin salınımı sonucu mikrovasküler perfüzyon disfonksiyonu oluşur. Reaktif oksijen molekülerinin oluşumu artar.



Şekil 2: Reperfüzyon fazı⁽¹⁾

2.3. İskemi/reperfüzyon hasarından korunma yöntemleri⁽²⁾

1. Kademeli reperfüzyon
2. İskemik preconditioning (önkoşullama)
3. Nötrofillerin temizlenmesi
4. Hipoksik reperfüzyon
5. Antioksidanlar
 - SOD
 - Katalaz
 - Tioller
 - E vitamini
6. İlaçlar ve diğer terapötik girişimler
 - Kalsiyum antagonistleri
 - Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü (ACEİ)
 - Allopurinol
 - Demir şelasyon
 - Fosfokreatin
 - Lidoflazin

2.4. İnflamatuar mediyatörler

İnflamatuar doku yanıtı oluşturulmasında aracılık eden kimyasal mediyatörlerden, ilk keşfedilen histamin olmakla birlikte, sayıları giderek artmaktadır. Mediyatörler, hasarlı dokudan, hücrelerden veya plazmadan köken alan çeşitli kimyasal maddelerdir.

İnflamatuar mediyatörlerin genel özellikleri⁽¹⁰⁾

1. Plazmadan köken alanlar (örneğin: komplemanlar) biyolojik aktivitelerini kazanmak için bir dizi proteolitik değişiklikler geçirirler. Hücreden köken alan mediyatörler normalde intrasellüler granüllerde (örneğin: histamin, mast hücrelerinde) bulunur; ihtiyaç olduğunda salgılanır veya bir uyarıya karşı yeniden sentez edilirler (örneğin: prostoglandinler).

2. Aktive edilince ve hücreden salınıncı bu mediyatörlerin çoğu kimyasal değişikliğe uğrar (örneğin: araşidonik asit metabolitleri) veya enzimler tarafından inaktive edilir (örneğin: kininaz, bradikinin inaktive eder).

3. Hemen tümü hedef hücrelerdeki spesifik reseptörlere bağlanarak aktivite gösterirler.

4. Bir kimyasal mediyatör hedef hücreye etkiyerek ikincil mediyatör çıkışını uyurabilir. Bu ikincil mediyatörler başlangıçtaki mediyatörlere benzeyebilir veya aynı olabilir. Bununla birlikte karşıt aktivite gösterebilirler.

Spesifik kimyasal mediyatörler

1. Vazoaktif aminler: Histamin, serotonin

2. Plazma proteazları

a) Kininler: Bradikinin, kallikrein

b) Kompleman sistemi

c) Koagülasyon-fibrinolitik sistem: fibrinopeptidler ve fibrin yıkım ürünleri

3. Araşidonik asit metabolitleri

a) Siklooksijenaz yolu (prostaglandinler, tromboksanlar, endoperoksitler)

b) Lipoksijenaz yolu [lökotrienler, hidroperoksieikozatetraenoik asid (HPETE), hidroksieikozatetraenoik asit (HETE)]

4. Lökosit ürünleri: Lizozomal proteazlar, serbest oksijen radikalleri

5. Trombosit Aktive Eden Faktör (TAF)

6. Sitokinler

7. Büyüme faktörleri

8. Diğer mediyatörler

2.4.1: Kompleman sistemi

Kompleman sistemi plazmada inaktif olarak bulunan enzimlerin kademeli aktivasyonu ile inflamatuvar peptidlerin, opsoninlerin ve hücre zarı saldırı kompleksinin oluştuğu bir yoldur. Bu yolda oluşan proteinler anaflatoksi, inflamasyon bölgelerinde vazodilatasyon, vasküler permeabiliteyi artıran (C_{3a} , C_{4a} , C_{5a}) ve fagositlerin endotele yapışmasını uyaran etkiler gösterirler. Kompleman sistemi klasik ve alternatif yol (properdin yolu) ve bu iki yolun birleşerek terminal yol ve sonucunda oluşan hücre zarı saldırı kompleksini kapsamaktadır. Mannoza bağlayıcı lektin (MBL)'in rol aldığı lektin yolu da klasik yolla birleşmektedir. Kompleman sistemi, bir dizi plazma proteini ve hücre zarı reseptöründen oluşmaktadır. Hepatositler, monositler, makrofajlar, böbreğin tübüler ve glomerüler hücreleri kompleman komponentlerinin sentez yerlerinden bazılarıdır. Kompleman sistemi proteinleri, serum total proteinin %10'unu

oluşturur, beyin omurilik sıvısında ise kompleman düzeyleri çok dūřuktur. Aktivasyon sırasında kompleman komponentlerinin çoęu, enzimatik olarak biri daha büyük olmak üzere, iki parçaya ayrılır. Küçük parçası, anaflatoksik, kemotaksik ve vasküler geçirgenliği artırıcı özellikler gösterirken büyük parçası ise bakteri zarları veya immunkompleks gibi farklı yüzeyle bağlanan ve bir sonraki komponenti aktive eden enzimatik bölgeye sahiptirler.⁽¹¹⁾ Aktif hale gelen protein, direkt olarak membran atak kompleksinin oluşumunu ve depolanmasını tetiklerken, indirekt olarak da kemotaktik ajanların ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimini uyarır. Birçok organ sisteminde yapılan çalışmalarda reperfüzyon döneminde kompleman sisteminin lokal aktivasyonuna rastlanmıştır.^(12,13)

İşkemi/reperfüzyon hasarında kompleman sistemleri erken dönemde aktifleşerek anaflatoksin (C_{3a} ve C_{5a}) ve membran atak kompleksi (C_{5b-9}) gibi biyolojik olarak aktif potent inflamatuvar komplemanların salınımını sağlarlar. Bu komponentler lökositleri aktive ederler.⁽¹⁴⁾ Kompleman reseptörleri; eritrosit, monosit, makrofaj, nötrofil, B ve T lenfosit, eozinofil, düz kas, epitel ve Langerhans gibi birçok hücre üzerinde bulunmaktadır. Kompleks metabolik donanımları olan bazı hücreler ise, kompleman komplekslerini ilerine alarak etkisiz hale getirdikten sonra veziküller halinde hücre zarından atarak kendilerini savunabilmektedir.

Normal fizyolojik şartlarda komplemanların aktivasyonu bazı düzenleyici proteinlerce (C_1 inhibitör, C_4 bağlayıcı protein, Faktör H ve I) kontrol edilir. İmmun kompleks hastalıklarında, otoimmun hastalıklarda (SLE, otoimmun artrit, multipl skleroz), anjiyo  dem, hiperakut greft reddi, vaskülitler, sepsis, Alzheimer

gibi nörodejeneratif hastalıklar ve iskemiye bağlı hasarlanan organlarda bu kontrol mekanizması bozulur ve kompleman sistemi elemanları aktif kalır.⁽¹³⁾

2.4.2: Serbest Radikaller

Serbest oksijen radikalleri, tüm aerobik hücrelerde oluşan, moleküler oksijen ve onun parçalarını içeren, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron bulunan yapılardır. Eşlenmemiş elektron nedeni ile serbest radikaller çok reaktiftir ve stabil değildir. Stabil olmadıklarından çok kısa ömürlüdür.⁽¹⁵⁾ Fakat yapılarındaki dengesizlik nedeniyle diğer moleküllerle kolaylıkla elektron alışverişi yaparak onların kararlı yapılarını bozarlar.⁽¹⁶⁾ Elektriksel yükleri pozitif, negatif veya nötr olabilir. Reaksiyona girme olasılıkları, elektriksel yüklerine bağlıdır.⁽¹⁷⁾ Tüm hücre bileşenleri ile etkileşerek kimyasal yapılarında değişiklik oluştururlar. Böylelikle metabolik ve yapısal değişikliklere neden olurlar ve hatta hücre ölümüne de yol açabilirler. Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı arasındaki denge devam ettiği sürece organizma bu maddelerden etkilenmemektedir.^(18,19) Normal sağlıklı koşullarda, SOR oluşumu ve koruyucu antioksidan mekanizmaların oluşan SOR'u organizmadan temizlemesi denge halindedir.

Oksijen molekülü, eşlenmemiş iki elektron içeren bir diradikaldir. Aerobik canlılar, yaşamları için gerekli kimyasal ve ışık enerjisini, gıdaları oksijen ile yakarak elde ederler. Aerobik canlılarda serbest radikaller için en önemli kaynağın moleküler oksijen olduğu kabul edilir. Oksijen molekülü ortamda sürekli

bulunduğu için serbest radikaller daha sıklıkla oksijen radikali şeklindedir.^(20,21)

Radikallerle eşlenmemiş elektron nokta ile gösterilmektedir.⁽²⁾

Serbest radikaller üç şekilde meydana gelir⁽²⁾

1. Homolitik ayrılma: Molekülün kovalent bağının ayrılması sonucu her iki atomun, bağı oluşturan elektronlardan birini alması



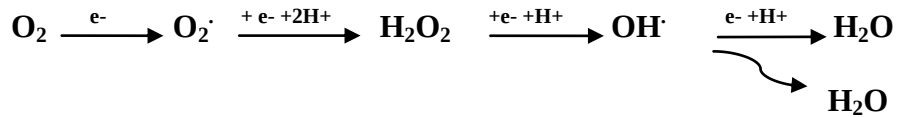
2. Normal bir moleküle elektron eklenmesi



3. Normal bir molekülden elektron kaybı



Serbest oksijen radikalleri, moleküler oksijen ve oksijenin en stabil formu olan H₂O ile arasındaki reaksiyonda üç ara basamakta oluşur. Bir elektronun oksijene transferi ile süperoksit radikali oluşur. Oksijen, iki elektron ve iki hidrojen ile reaksiyona girerek hidrojen peroksit (H₂O₂) oluşturur. İki süperoksit molekülü iki hidrojenle reaksiyona girerek H₂O₂ ve oksijen oluşturur.



Tablo 1: Oksijen bileşikleri⁽²⁾

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Hidroksil	OH[·]	Hidrojen Peroksit	H₂O₂
Hidroperoksil	H O₂[·]	Singlet Oksijen	O₂
Peroksil	ROO[·]	Ozon	O₃
Süperoksit	O₂^{·-}	Hipoklorid	HOCl
Nitrik oksit	NO	Hidroperoksit	LOOH
Azot dioksit	NO₂	Peroksinitrit	ONOO[·]
Alkoksil	RO[·]		

Serbest radikal reaktanlarının radikal olmayan ürünler oluşturmaya dismutasyon reaksiyonu denir. Bu reaksiyonlar spontan olabildiği gibi süperoksit dismutaz enzimi tarafından da katalizlenebilir.

2.4.2.1. Hücrelerde radikal oluşumu

Yaşadığımız çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır. Subsellüler organeller, yapısal komponentler ve sitoplazmik oluşumların hepsi radikal oluşumunda rol oynar.^(22,23)

Serbest radikaller, normal fizyolojik olaylarda redüksiyon-oksidasyon (redoks) reaksiyonları ile oluşabildikleri gibi, anestezi maddeleri, antineoplastik ilaçlar gibi eksojen kimyasal maddelerin ve aromatik hidrokarbonların enzimatik metabolizmaları sırasında ve dış etkenler (radyasyon, ışık, ısı, sigara, hava

kirliliği) etkisiyle de oluşabilir. Biyolojik sistemlerde ise en fazla; elektron transferinin (çoğunlukla metal iyonlarına transfer) yer aldığı redüksiyon-oksiasyon (redoks) reaksiyonları sırasında oluşurlar.⁽²⁴⁾

Tablo 2: Serbest oksijen radikallerinin kaynakları⁽²⁾

Endojen kaynaklar
Elektron transport sistemleri
Oksidan enzimler
• Ksantin oksidaz • Triptofan dioksijenaz • Galaktoz oksidaz • Siklooksijenaz • Lipooksijenaz
Fagositik hücreler
• Nötrofiller • Monosit ve makrofajlar • Eozinofiller • Endotelyal hücreler
Otooksidasyon reaksiyonları
Eksojen kaynaklar
Redoks potansiyelli maddeler (paraquat, doksarubisin, alloksan)
İlaç oksidasyonları (parasetamol, karbontetraklorür)
Sigara
İyonize radyasyon
Güneş ışığı
Isı şoku
Okside glutatyon

Normal durumlarda hücrelerdeki serbest radikalın majör kaynağı elektron transport zincirinden olan elektron kaçaklarıdır. Endoplazmik retikulum ve mitokondrilerde moleküler oksijen ve süperoksit oluşur. Süperoksit veya H_2O_2 oluşumunda peroksizomlarda lokalize flavin oksidaz gibi enzimler rol oynar.⁽²⁵⁾

Mitokondriyal radikallerin kaynağı, mitokondri iç membranında yer alan elektron transport zinciridir. Oksijenin %95'i herhangi bir ara metabolit oluşmadan H_2O 'ya indirgenirken, kalan %5'i serbest radikal oluşturur.⁽²⁶⁾

2.4.2.2. Hücrelerde hasar oluşumu

Serbest oksijen radikalleri, apoptozis ve hücre nekrozunu uyarabilir. Hücre membranları doymamış yağ asitlerinin en zengin kaynağıdır ve radikaller tarafından hasara uğratılır. Doymamış yağ asitlerinin oksidatif destrüksiyonu olarak tanımlanan lipid peroksidasyonu sonucu membran yapısı değiştirilerek direkt veya reaktif aldehytlerin oluşumu ile indirekt hasar oluşur. Membran yapısının değişmesi sonucu akışkanlık kaybı, transmembran iyonik gradient ve membran salgılama fonksiyonlarında bozukluk meydana gelir.^(21,27,28)

Proteinler ve nükleik asitler doymamış yağ asitlerine göre daha az hasara uğramaktadır. Proteinler esas olarak hidroksil radikali tarafından hasarlanmaktadır. Oksidasyon için en kolay etkilenen sülfidril gruplarıdır. Proteinlerin oksidasyonu yapı ve fonksiyonlarda önemli değişikliklere neden olur. Aşırı SOR salınımında kardiyomiyositlerin homeostazisinde önemli rol alan pek çok protein etkilenmektedir. Membran iyon kanallarındaki değişiklik sonucu K^+ , Ca^{++} , ve daha az olarak Na^+ geçirgenliğinde değişiklikler oluşmaktadır. Na^+ / Ca^{++}

değişimi SOR varlığında uyarılabilmektedir. $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATP'az ve Ca^{++} ATP'az aktiviteleri oksidatif strese azalmaktadır. Kontraktil proteinlerin oksidatif modifikasyonu hemodinamik yetmezlikle sonuçlanır. Protein oksidasyonu sonucu glutatyon sentetazda azalma, protein karbonilde artış gözlenmektedir.^(21,27,28) İyonize edici serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon ve ölüme yol açabilir.^(26,28,29)

Organizmada serbest oksijen radikalleri ortaya çıktıktan sonra radikal reaksiyon dizileri başlar. Eğer bir serbest radikal, radikal olmayan bir molekülle reaksiyona girerse, binlerce reaksiyondan oluşan reaksiyon zincirlerini başlatır. Serbest oksijen radikalleri paylaşılmamış elektronlarından dolayı lipid, protein, karbonhidrat, nükleik asit gibi çeşitli makro moleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar.⁽³⁰⁾

Makro moleküllerdeki hasarlanma mekanizmaları

1. Lipid peroksidasyonu
2. Protein oksidasyonu
3. DNA
4. Kovalen bağlanma
5. Kalsiyum

1. Lipid Peroksidasyonu

Serbest radikallerin hücrede başlattığı en önemli ve zararlı etki lipid peroksidasyonudur. Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller ile oksidasyonu lipid peroksidasyonu olarak tanımlanır.⁽³¹⁾

Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan kuvvetli yükseltgen bir radikalın etkisiyle membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asidi zincirindeki alfa metilen gruplarından bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikalın süperoksit ile hidroksil radikalının olduğu kabul edilmektedir. Yağ asidi, zincirinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması sonucu zincir radikal niteliğini kazanır. Bunun sonucunda oluşan radikal alkil radikali olup dayanıksız bir türevidir ve bir dizi değişikliğe uğrar.

Özellikle molekül içi çift bağ aktarılması ve lipid radikalının moleküler oksijenle etkileşimi sonucunda lipid peroksi radikali (LOO) oluşur. Lipid peroksi radikali zar yapısındaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek hidroperoksit (ROOH) ve yeni bir alkil radikali oluşturur. Lipid peroksidasyonu, lipid hidroksiperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşikleriyle etkileşmesi sonucu etan, pentan gibi uçucu gazlara dönüşür.^(8,31)

Lipid peroksidasyonu biyolojik membranlarda akıcılığın kaybına, membran potansiyelinde azalmaya, hidrojen ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğin artışı neticesinde hücrenin hasarına ve içeriğinin serbestleşmesine neden olur. Ek olarak lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağ yapmalarına yol açar. Bu da, hücre yüzeyinin durumunu, enzim aktivitesini, iyon transportunu etkileyebilir.^(30,31)

2. Protein oksidasyonu

Serbest radikaller ile oluşan protein oksidasyonunun kimyasal sonucu olarak metionin sulfokside, histidin oksihistidine veya aspargine, tirozin ditirozine ve sistein disulfidlere dönüşür. Bu değişiklikler proteinlerin bağlanma özelliklerinde ve enzim aktivitelerinde farklılaşmaya neden olarak hücre fonksiyonlarında bozulmalara yol açabilir.^(30,31)

3. DNA

Serbest oksijen radikalleri, adenin ve piridin nükleotid oluşumlarının sürdürülebilmesi için gerekli yollara engel olabilirler. DNA ile tepkimeye girerek mutajenik olan 8-hidroksiguanin'in ortaya çıkmasına neden olurlar.⁽³²⁾

4. Kovalen bağlanma

Serbest radikaller polisiklik hidrokarbonlar, aromatik aminler ve nitrozaminler gibi ksenobiyotiklerin çeşitli biyomoleküllere kovalen bağlanmasına neden olabilir. Bu da doğrudan hücre hasarına yol açabilir.⁽³²⁾

5. Kalsiyum

Hücre yaralanması ile ilgili olduğu düşünölen bir elementtir. Kalsiyumun transportunu engelleyen herhangi bir durum hücre fonksiyonlarını olumsuz etkiler. Ca^{++} -ATP'az enzimleri önemli sulfidril gruplarına sahiptir ve serbest SOR tarafından inaktive edilebilir. Sitokinler, hipoksi, endotoksin gibi faktörler, SOR aracılı yol kullanarak, hücre enerjisini azaltabilirler.⁽³³⁾

Reperfüzyon hasarının değeriendirilmesinde kullanılan parametreler⁽²⁾

1. GSH / GSSH oranı
2. Superoksit dismutaz
3. Katalaz
4. Malondialdehit
5. Hidroperoksidazlar
6. Tiyobarbitürik asit
7. İsoprostanlar

1. GSH / GSSH oranı

İndirgenmiş glutatyon (GSH) / yükseltgenmiş glutatyon (GSSH) oranı oksidatif stres gelişiminin ve serbest radikal oluşumunun bir göstergesidir. Glutatyon homeostazisinin sürdürülmesi, oksidatif strese karşı majör savunma mekanizmalarından biridir.^(6,21,26,28)

GSH, süperoksit radikallerin ortadan kaldırılmasında GSH-Px enziminin etkisi için substrat olarak kullanılmaktadır. Ca^{++} bağımlı ATP'az ve glikolitik enzimlerin disülfid tiyollerinin hücre içi düzenleyicisi olarak etki etmektedir.

2. Süperoksit dismutaz (SOD)

Esas endojen antioksidandır. Oksijen üreten tüm mikroorganizmalarda bulunan metalloproteindir. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi artar. Substratı olan süperoksitin H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar.⁽²⁾

İnsanlarda SOD'ın üç tipi vardır:

SOD-1: Cu-Zn SOD: Sitoplazmada bulunur.

SOD-2: Mn-SOD: Mitokondride bulunur ve antitümör aktivitede etkindir.

SOD-3: ES-SOD: Ekstrasellüler sıvıda bulunur. Heparin ve heparin sülfat gibi glukozaminoglikanlara afinitesi yüksektir. Memeli dokularında regülasyonu primer olarak sitokinlerce sağlanır.⁽³⁴⁾

H₂O₂'nin H₂O'ya dönüştürülmesi ise GSH-Px veya katalaz tarafından yapılır. SOD katalitik aktivitesindeki herhangi bir artış H₂O₂ oluşumunu artırdığından nötralizasyonu sağlamak için GSH-Px aktivitesinin de artması gerekir. Birinci ve ikinci aşamadaki enzimlerin dengede olması hücreyi oksidatif hasardan korur. SOD, hücredeki SOR toksisitesinin düzenlenmesinde önemli rol oynar. Süperoksit iyonlarının artmış oluşumuna yanıt olarak SOD aktivitesi artar. Hücrelerdeki SOD ve GSH-Px aktivitesi arasındaki dengesizlik hücrelerdeki oksidatif stresin bir belirtisi olarak kabul edilir. GSH-Px aynı zamanda GSH'nin yükseltgenmesinde etki etmektedir.^(6,28,35,36)

SOD, fagosit edilmiş bakterilerin hücre içinde öldürülmesinde de görev alır. Hücreyi özellikle DNA'yı radyasyonun iyonizan etkisine karşı koruyucudur.⁽³⁷⁾

3. Katalaz

Bütün memeli hücrelerinde genellikle kan, kemik iliği, subsellüler organellerinin iç kısmında bulunan peroksizom enzimidir. Aktif merkezinde dört adet hem grubu içeren tetramerik yapılı bir hemoproteindir. Dokuların H₂O₂ radikalini su ve moleküler oksijene metabolize ederek reperfüzyon hasarından

korur. H_2O_2 aktivitesinin azaltılmasında GSH-Px'a göre daha düşük aktivitelidir. H_2O_2 oluşumunu, lipid peroksidasyonu ve vasküler hasarı baskılar.^(6,38,39) Kısa süreli I/R'de antioksidan enzim aktivitesi artarken tüketilen antioksidan enzimlerin yerine konulamaması nedeniyle uzun süren I/R' de enzim aktivitesinde azalma oluşur.

4. Malondialdehit (MDA)

Serbest radikallerin en önemli hasarlarından biri lipid peroksidasyonudur ve bu MDA oluşumu ile değerlendirilebilir.^(26,28,40,41) Lipid peroksidasyon yan ürünüdür. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu meydana gelir ve ölçümü tiyobarbitürik asitle yapılmaktadır. Günümüzde birçok hastalıkta oksidatif stres belirteci ve doku hasarının en iyi göstergesidir.^(19,42) İskemi/reperfüzyon hasarının şiddetini değerlendirmede yaygın kullanılan geleneksel yöntemlerden biridir, ancak duyarlılığı ve özgünlüğü düşüktür.⁽⁴³⁾

Hücre membranları yağ asitleri ve fosfolipidlerden oluşmaktadır. Serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonuna yol açarak fonksiyonel ve yapısal değişikliklere neden olabilir. Lipid peroksit, hücre membranlarında rüptür, iyon kanallarında ve pompalarda değişikliğe neden olur. İntrasellüler Ca^{++} konsantrasyonundaki artış, Ca^{++} bağımlı fosfolipaz, proteaz ve endonükleaz gibi bazı enzimlerin aktivasyonuna neden olmaktadır.

5. Hidroperoksidazlar

Memeli dokularının hasarı, doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Esteraz ve lipoksijenaz enzimlerinin aktivasyonu hidroperoksidazları oluşturur.^(36,44,45) Oksidasyon reaksiyonlarında ilk olarak lipid peroksil radikalleri oluşur. Daha sonra lipid hidroperoksitler meydana gelir. Fulminan hepatit, MI ve şiddetli yanık lipid peroksit miktarını artırır. Antioksidanlarla tedavi ile lipid peroksidasyon işlemlerinin azaltılabileceği kabul edilmektedir. Çeşitli dokular içinde GSH ve GSSH transportu olduğundan kan glutatyon seviyesinin ölçülmesi pratikte yapılabilmektedir.

6. Tiyobarbitürik asit (TBA)

Lipid peroksidasyon aldehitleri (MDA gibi) ile reaksiyona giren ve biyolojik örneklerde lipid peroksidasyonunu değerlendirmek için sık kullanılan parametrelerden biridir. Plazmadaki TBA ölçümü, hastalıklarda oksidatif stresi ve radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonunu araştırmak için kullanılmaktadır.^(6,26,40)

7. İsoprostanlar

Serbest radikallerin katalizlediği bir mekanizma ile araşidonik asitten oluşan ürünlerin oluşturduğu bir kompleks ailedir. İnsanda ilk defa 1990 yılında Morrow ve ark. tarafından araşidonik asidin serbest radikaller tarafından peroksidasyonu sonucu oluşan prostoglandin-F₂ benzeri bir ürün olarak saptandığından F₂-isoprostanlar olarak adlandırılmışlardır.⁽⁴⁶⁾ İdrar, plazma, BOS, seminal sıvı,

perikard sıvısında ölçülmüştür. Serbest radikal hasarının olduğu bölgede salındığı, daha sonra dolaşımda dilüe olduğu ve bu nedenle bölgesel vazokonstrüksiyonda etkili olduğu kabul edilmektedir. Serbest radikal mekanizması sonucu araşidonik asitten oluşan kompleks bir ailedir. Vasküler hastalıklarda lipid peroksidasyonunu araştırmak için fırsat sağlayan fizyopatolojik biyomarkerlerdir.

Endojen antioksidanlar, organizmada normal metabolik olaylar sırasında sürekli olarak oluşan serbest radikalleri etkisizleştirir. Oksidan maddeler belirli düzeyin üzerine çıktığında ve antioksidan savunma sistemleri yetersiz kaldığında serbest radikaller lipid, protein, karbonhidrat ve nükleik asit gibi hücrenin bazal yapı taşlarını hasara uğratar.^(21,27-29)

2.4.2.3. Radikallere karşı savunma sistemleri

Memeli hücrelerini oksidanlara karşı savunan beş mekanizma önemlidir^(25,28)

1. Metal iyonlarının bağlanması ile toksik radikal oluşumunun önlenmesi
2. Oluşan radikallerin toplanması ve bastırılması
3. Radikal zincir reaksiyonlarının kırılması
4. Hedef molekülün hasar sonrası tamiri veya tamir edilemeyecek durumdaki moleküllerin uzaklaştırılması
5. Antioksidan kapasitenin artırılması

Tablo 3: Major endojen antioksidanlar ve etkileri⁽²⁸⁾

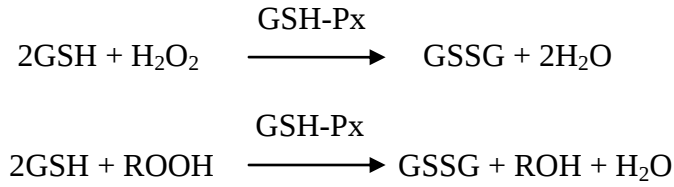
Adı		Etkisi
SOD -Cu, ZnSOD -MnSOD	Sitoplazma Hücre yüzeyi Mitokondri	Oksijenin hidrojenperoksit'e dismutasyonunu katalizler $2O_2^- + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$
Katalaz	Peroksizom Mitokondri membranı	$H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$
Glutasyon peroksidaz	Sitoplazma	$H_2O_2 + 2GSH \longrightarrow 2H_2O + GSSH$
Glutasyon	Hücre içi	Hücre sel indirgen
Koenzim Q10	Hücre membranı	Aktif elektron taşıyıcısı
E vitamini (α-tokoferol)	Sitoplazma ve plazma	Lipid peroksidasyon zincirlerini kıırma ve LDL reaksiyonu
β karoten (pro-vitamin A)	Plazma	LDL oksidasyonunun inhibisyonu
C vitamini (askorbik asit)	Sitoplazma ve plazma	Antioksidan olarak direkt veya E vitamini için kofaktör olarak

Antioksidanlar iki gruba ayrılır⁽²⁾

1. Enzimatik antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutasyon peroksidaz
2. Enzimatik olmayan antioksidanlar: C vitamini, E vitamini, melatonin, bazı β -blokerler (metoprolol, karvedilol), amiodaron, karotenoidler, tiyol antioksidanlar (glutasyon, tiyoredoksin ve lipoik asit), naturel flavanoidler

1. Glutasyon peroksidaz

Hücrelerin daha çok sitozollerinde bulunur. H_2O_2 ve organik peroksitlerin redüksiyonunu sağlayarak membran lipidlerini ve hemoglobini oksidatif hasara karşı korur. İnsanlarda dört farklı GSH-Px bulunur ve bunların hepsi peroksitlere iki elektron ekleyerek selenoller (Se-OH) oluştururlar. Selenoenzimler, antioksidan özellikleri sayesinde peroksitleri Fenton reaksiyonu aracılığıyla elimine ederler. GSH-Px'in aracılık ettiği katalitik reaksiyonun substratları H_2O_2 ve organik peroksit ROOH'dır.⁽³⁶⁾



GSH-Px, fagositik hücrelerde önemli görevlere sahiptir. Eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkin antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, H_2O_2 'nin artmasına ve şiddetli hücre hasarına neden olur.⁽⁴⁷⁾

2. Glutasyon

Tiyol grubu antioksidanlardan biridir. Tripeptit yapıda olup sitozol, çekirdek ve mitokondride yüksek oranda bulunur. Glutasyonun redükte formu GSH (glutasyon); okside formu GSSH (glutasyon disulfit)'dir. GSH çekirdekte DNA yapımı ve onarımı için gerekli olan sülfhidril proteinlerinin redükte durumunun sürdürülmesinde görev alır.⁽³⁶⁾

3. C vitamini (Askorbik asit)

Akciğer, göz gibi vücudun aköz sıvılarında bulunur. E vitamini ve karotenoidlerle birlikte çalışır. Membranlarda ve lipoproteinlerde oluşan α -tokoferol radikalini yeniden α -tokoferol formuna dönüştürür.⁽²⁾

4. E vitamini

Yağda eriyebilir. İnsanlardaki en aktif formu olan α -tokoferol, hücre membranına bağlı bulunur ve lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etki gösterir. Antioksidan reaksiyon sırasında α -tokoferol, bir labil hidrojeni lipid veya lipid peroksil radikaline vererek kendisi α -tokoferol radikaline dönüşür. Oluşan bu ürün ise C vitamini tarafından tekrar α -tokoferole geri çevrilir.⁽²⁾

2.4.3. Sitokinler

Spesifik reseptörlerine bağlanarak inflamatuvar ve immünolojik yanıtta görevli düzenleyici proteinlerdir. Endotel hücreleri, lökositler ve hemen hemen tüm çekirdekli hücreler tarafından sentezlenirler.⁽⁴²⁾ I/R hasarında inflamatuvar cevabın hem başlatılmasında hem de devamında önemli role sahiptirler.

Reperfüzyon sonrası, dolaşımda IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler gözlenir. Bu ajanlara karşı antagonistler kullanılarak, hem IL-1'in hem de TNF- α 'nın vasküler yaralanmaya katkıda bulundukları ve endotel adhezyon moleküllerini arttırdıkları gösterilmiştir.⁽⁸⁾ I/R'da sitokin salınımının bilinmesine rağmen bu sitokinlerin permeabilite üzerine olan etkilerinin direkt mi yoksa hücre adhezyon

molekülleri ekspresyonu ve nötrofil adhezyon aktivasyonu yoluyla mı olduğu bilinmemektedir.⁽⁴⁸⁾

2.4.3.1. Tümör nekrozis faktör (TNF)

Tümörlerde hemorajik nekroz yaptığı için bu isim verilmiştir. Kaşektin olarak da bilinir. TNF- α ve TNF- β olarak ikiye ayrılır. TNF- α ve TNF- β arasında yaklaşık %30 oranında benzerlik vardır. 6. kromozom üzerinde yer alan iki ayrı gen tarafından yapılır. Aynı hücre yüzey reseptörüne bağlanmak için yarışır. TNF- α 'nın molekül ağırlığı 17 kDa'dır. TNF- α başlıca aktif makrofajlar tarafından yapılır. TNF'nin iki ayrı gen tarafından kodlanan iki ayrı reseptörü vardır. Tip II reseptör başlıca miyeloid hücrelerde bulunurken Tip I reseptör pek çok hücrede mevcuttur.⁽⁴⁹⁾ TNF- α 'nın biyolojik fonksiyonları, konsantrasyonuna bağlıdır. Düşük konsantrasyonlarda etkisi lokaldir. Lökositler ve endotel hücreleri üzerine otokrin ve parakrin etki yapar. TNF- α , damar endotelinde bazı adezyon moleküllerinin ortaya çıkmasına yol açar. Adezyon molekülleri endotelin önce nötrofiller daha sonra da mononükleer lökositler için yapışkan olmasını sağlar. Böylece inflamatuvar reaksiyondan sorumlu hücreler enfeksiyon sahasına toplanır. TNF- α , nötrofil, eozinofil ve mononükleer fagositlerin mikroorganizmaları öldürmesini aktive eder, mononükleer fagositler ve diğer bazı hücrelerin inflamatuvar yanıtta önemli rolleri olan IL-1, IL-6, TNF- α ve kemokin gibi sitokinlerin üretimini uyarır.⁽⁴⁹⁾

TNF- α 'nın genel sistemik etkileri⁽⁶⁵⁾

1. Endojen pirojendir. Hipotalamik etkiyle ateş oluşturur. Bu ateşin nedeni, hipotalamik hücrelerin aşırı prostoglandin sentezlemesidir.

2. Mononükleer fagosit ve vasküler endotelin, IL-1 ve IL-6; hepatositlerin ise akut faz proteinlerini sentezlemesini uyarır. Akut faz proteinleri, organizmada bir doku hasarı ve inflamasyon olduğu zaman plazma düzeyleri değişiklik gösteren proteinlerdir. Bunlardan bazılarının konsantrasyonu artarken (C-reaktif protein, serum amiloid-A, α -2 makroglobulin, fibrinojen, seruloplazmin, ferritin, kompleman komponent-3 gibi) bazılarının ise düşer (albümin, transferrin gibi).

3. Damar endotelinin prokoagülan ve antikoagülan fonksiyonlarında değişiklikler yaparak pıhtılaşma sistemini aktive eder.

4. Uzun süre verildiğinde kemik iliğinde kök hücre bölünmesini baskılayarak lenfopeni, immün yetmezlik ve kaşeksi gelişmesine yol açabilir.

TNF- α , osteoblastik alkalen fosfataz aktivitesini, osteoklastların kemik rezorbsiyonunu, kondrositlerin kartilaj turnover'ını, fibroblast ve sinoviyal hücrelerin proliferasyonunu uyarır. Aşırı miktarda TNF- α salınımı dolaşım yetmezliği ve disemine intravasküler koagülasyon (DIC) ile ölüme sebep olabilir.⁽⁴⁹⁾

Deneyisel çalışmalarda, anti TNF- α antikorları intraventriküler olarak verildiğinde enfarkt volümünde azalma olduğu gözlenmiştir.⁽⁵⁰⁾ Farelerde stroke öncesi TNF- α beyne verildiğinde iskemik süreci arttırmaktadır.⁽⁵¹⁾ TNF- α , prokoagulatör faktörlerin ve lökositlerin endotelyumdan geçişini kolaylaştırarak

iskemik hasarın artmasına yardımcı olmakta, nötrofilleri aktive etmekte ve lökosit-endotelyal hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttırmaktadır.⁽⁵²⁾

2.4.3.2. İnterlökinler

Mononükleer fagositler, B lenfositler, Naturel Killer (NK) hücreler, hücre kültürlerinde büyütülen T lenfositler, keratinositler, dendritik hücreler, astrositler, fibroblastlar, nötrofiller, endotel ve düz kas hücreleri tarafından yapılabilirse de başlıca kaynağı aktif mononükleer fagositlerdir.⁽⁴⁹⁾ IL-1 ailesi; IL-1 α , IL-1 β , IL-1ra ve IL-1 γ olmak üzere dört alt gruptan oluşmaktadır.⁽⁵³⁾ IL-1 α ve IL-1 β yaklaşık 17 kDa ağırlığında, yapısal olarak %26 oranında benzerlikleri olan moleküllerdir.⁽⁴⁹⁾ IL-1 reseptör antagonisti (IL-1ra) biyolojik olarak inaktif olmasına rağmen IL-1 reseptörlerine bağlanmak için IL-1 α ve IL-1 β ile yarışır ve dolayısıyla inhibitör fonksiyon görür.

IL-1, düşük konsantrasyonda lokal inflamasyon mediatörü olarak etki gösterir. Endotel hücrelerin prokoagülan özelliklerini ve lökosit adezyonunu mümkün kılan yüzey moleküllerinin ekspresyonunu artırır. Mononükleer fagosit ve endotel hücrelerde kemokin sentezini uyarır. IL-1'in parakrin etkisiyle T lenfositler IL-2 yapar ve yüzeylerinde IL-2 ve IFN- γ reseptörlerinin ekspresyonu kuvvetlenir, klonal proliferasyon olur. Yardımcı T lenfositler üzerine olan bu etkileriyle IL-1, humoral ve hücrel immün yanıtları kuvvetlendirir, B lenfositlerin büyüme ve çoğalmalarında, immünglobülin sentezlenmesinde olumlu etkisi vardır. Koloni uyarıcı faktörlerle sinerjistik çalışarak kemik iliğindeki progenitör hücrelerin proliferasyon ve farklılaşmalarını uyarır. Kemik iliğinde

nötrofil yapım ve salınımını arttırır. Epitel hücrelerinin proliferasyon ve fonksiyonlarını uyarır. Pankreasın beta hücrelerini etkileyerek plazma insülin düzeylerinde değişikliklere yol açar. İn vitro pek çok tümör hücresi üzerine sitostatik ya da sitotoksik etki gösterebilir.⁽⁴⁹⁾ İnflamatuvar reaksiyon sırasında, lökosit ve nötrofiller iskemi bölgesine hızla hareket etmektedir. Lökositler, kapillerlerde obstrüksiyon, vazokonstriksiyon ve sitotoksik mediatörlerin salınımı sonucu hücrelerde irreversible değişikliklere neden olmaktadır. IL-1 β , nötrofil infiltrasyonunda ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunun artışında rol oynamaktadır.⁽⁵⁴⁾ Ayrıca, inflamatuvar metabolit ve enzimlerden, prostoglandinlerin, kollojenaz ve fosfolipaz A2'nin salınımını arttırmaktadır. TNF- α ve IL-6 sentezinin stimülasyonu yanı sıra her ikisiyle de sinerjistik etki göstermektedir.⁽⁵⁵⁾ IL-1 β 'nin bu etkilerine ilaveten, iskemi esnasında intrasellüler kalsiyum düzeyinin artmasında, serbest oksijen radikallerinin oluşumunda, NO sentezi stimülasyonu sonucu NO artışında, araşidonik asit salınımında, CRP, kompleman, β -amiloid düzeylerinin yükselmesinde önemli rolü bulunmaktadır.⁽⁵⁶⁾

Anti IL-1 β antikoları ve IL-1 reseptör antagonistleri kullanılmasının yanısıra IL-1 β sentezinde görevli enzimlerin inhibisyonunun, inflamasyonun ve dolayısıyla iskemik sürecin düzelmesinde yardımcı olacağı düşünülmektedir.⁽⁵⁷⁾

IL-6 hem lenfoid hem de non-lenfoid hücrelerce üretilir. İnflamasyonda akut-faz cevabını düzenler.⁽⁴²⁾

IL-8, güçlü bir kemokindir. İskelet sisteminde, miyokardiyal ve renal I/R hasarında anlamlı düzeylerde olduğu gösterilmiştir. Lökositlerde ve endotel hücrelerinde sentezlenir. Nötrofil kemotaksisi ve adhezyonu fonksiyonunun yanı

sıra nötrofillerden salınan proteolitik enzimlerin degranülasyonuna da neden olur. Oksidatif patlamadaki bu rolünden dolayı reaktif oksijen moleküllerinin üretimini arttırmış olur.⁽⁴²⁾

2.5. Miyokardiyal iskemi/reperfüzyon (I/R)

Miyokardiyal iskemi çeşitli fizyolojik veya terapötik girişimler sonucunda oldukça sık karşılaşılmaktadır. Ateroskleroz veya tromboembolizm sonucu gelişen akut MI'da olabildiği gibi perkütan translüminal koroner anjiyoplasti (PTCA), koroner arter baypas cerrahisi (CABG), aort cerrahisi, kardiyak transplantasyonlar gibi çeşitli durumlarda da miyokardiyal iskemi karşımıza çıkabilmektedir.

İskemi sırasında miyokardın enerji balansı kısa sürede bozulur ve kalpte sekiz saniyede aerobik metabolizmadan anaerobik metabolizmaya geçiş gerçekleşir. İskemik sahada miyokard kontraksiyonları azalır. Hücre membran potansiyelinin azalması ile EKG değişiklikleri ortaya çıkar.⁽⁵⁸⁾

Miyokardiyal iskemi için kritik zaman 20 dk olarak kabul edilir. 20 dk'dan daha kısa süreli olan iskemilerden sonra sağlanan reperfüzyon durumlarında doku hasarının kanıtı olan herhangi bir yapısal veya biyokimyasal bulgu saptanmamıştır. Miyokardiyal iskemi 20 dk'dan daha az süreyle oluşursa reperfüzyonda etkilenen dokularda hücre yapısı, fonksiyonu ve metabolizmasında geçici değişiklikler oluşur. Bu değişiklikler miyokardiyal kontraktilitede depresyona yol açar.⁽³⁵⁾ 10 dk'lık iskemi sonrasında intrasellüler ortamda laktat ve H⁺ iyonu birikmesi sonucu pH 5,8'e kadar düşer. Hücre içinde inorganik fosfat,

kreatin, laktat gibi osmotik olarak aktif maddelerin birikmesi sonucu su, hücreye doğru kayar (swelling process=hücre şişmesi). Miyokard hücresinde biriken adenozin difosfat (ADP), adenozin ve inozine kadar hidrolize uğrar. Bu işlem sırasında ortamda büyük oranda proton üretilir. Hücre pH'sının azalması (asidoz) sırasında glikoliz inhibe olur. Genellikle ciddi ve uzun süreli iskemi ile ATP depolarının %80 veya daha fazlası kaybolursa, hücre membranının iyon bütünlüğünü koruma ve idame ettirme mekanizması kaybolur. İskemik alana kan akımı yeniden sağlanmazsa geriye dönüşümsüz miyokard hasarı (nekroz) meydana gelir.⁽⁵⁹⁾

Yirmi dk'dan daha uzun süren iskemiden sonra oluşan reperfüzyon hasarında miyokardiyal hücreler ölür. Doku nekrozu iskemik miyokardın subendokardiyal bölgesinden başlar ve subepikardiyal bölgeye doğru uzanır. Koroner kan akımının yeniden sağlanması sonucu iskemik dokudan toksik oksijen metabolitleri salınır. SOR tarafından oluşturulan hücre membran ve sarkoplazmik retikulum hasarı intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunda net artışla sonuçlanır. Kontraktil elemanların kalsiyuma karşı duyarlılığı azalır ve miyosit kontraktilitesi deprese olur.^(6,22,29) Uzamış iskemiden sonra kalp kasında reperfüzyon ile yaşayan hücrelerde tekrar aerobik metabolizmaya geçiş ve hücrelerin kurtulması meydana gelir. Dokuda reaktif hiperemi gelişmesi ile ortaya çıkan substratlar dolaşımında %400-600 artar. Hücrede serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkmasıyla medikal tedaviye dirençli ciddi aritmi, mikrovasküler hasar, miyokardiyal stunning ve miyokardiyal hibernasyon meydana gelir.⁽⁶⁰⁾

Miyokardiyal I/R olaylarında serbest oksijen radikali oluşumunda intrasellüler enzimatik mekanizmalar gerçekleşir. Bunlar, ksantin oksidaz, mitokondriyal sitokrom oksidaz yolu, siklooksijenaz, lipoksijenaz ve katekolamin oksidasyonudur. İskemik dokunun reperfüzyonu, hasarlı bölgede, nötrofillerin hızlı birikimine neden olur. Nötrofiller vasküler endotele yapışır, ekstrasvasküler sahaya geçer, serbest oksijen radikali oluşumu ve proteolitik enzimlerin salınımına yol açarak canlı hücreler üzerinde olumsuz etki oluşturur.

GSH redoks siklusu, kalpteki majör antioksidan savunma sistemidir. GSH-Px elektron vericisi olarak GSH'ı kullanarak H_2O_2 ve lipid peroksitleri metabolize eder. Oluşan reaktif oksijen radikalleri ile GSH'ın reaksiyonu GSSH oluşumuna öncülük eder. Oluşan GSSH, glutatyon redüktaz tarafından GSH'a dönüştürülür. Miyokardiyum reperfüzyonla birlikte fazla miktarda oluşan oksijen radikallerine maruz kalır, bu durum koruyucu sistemleri baskılayabilir.^(6,26,28)

Endotelde yapılan fonksiyonel çalışmalarda, hipoksinin endotel hücrelerinde hasar oluşturduğu görülmüştür. Arterin yeniden açılmasından sonraki 150 sn. içinde NO'nin endotelden salınımında belirgin artış gözlemlenmektedir. NO, platelet agregasyonunu ve plateletlerde GMP-siklaz'da direkt etki ile degranülasyonu inhibe eder. Aktive endotel, lökositler ve monositlerde adezyon moleküllerinin oluşumu azalır.⁽⁶¹⁾

İskemik miyokard dokusunun reperfüzyonu ile birlikte inflamatuvar süreç başlar. Aktive lökositler iskemik doku içine girerler. Aktive nötrofiller aktive plateletlerle birlikte hasarlanmış damar duvarına yapışırlar ve membrana bağımlı NADPH oksidaz tarafından süperoksit oluştururlar.⁽⁶²⁾ Aktive nötrofiller, IL-1 β ve

TNF- α gibi iki önemli proinflamatuvar sitokinin kaynağıdır. Reperfüzyondan sonra hücre içi pH'da azalma sonucu endotel hücrelerinde ödem ve önemli şekil değişiklikleri oluşur.

2.6. No-reflow fenomeni

İlk defa 1968 yılında Ames ve ark. tarafından tanımlanmıştır.⁽⁶³⁾ Oklude olan koroner arterde tekrar yeterli antegrad akım sağlanmış olmasına rağmen miyokard dokusunda gerekli perfüzyonun sağlanamadığı multifaktöryel bir durumdur.⁽⁴⁷⁾ Mikrovasküler perfüzyonun yetersizliğini gösterir.⁽²⁾ İskemiye maruz kalan dokudaki en hassas bölgelerden biri damar endotelidir ve iskemi süresi uzadıkça no-reflow gelişme olasılığı artar.

2.7. Miyokardiyal stunning (sersemleme)

Miyokardiyal iskemi veya iskemi atakları sonrasında oluşan kontraktıl disfonksiyondaki geçici uzamadır. Reperfüzyon sonrası irreversibl hasar olmamasına ve koroner perfüzyonun normal veya normale yakın olmasına rağmen devam eden mekanik disfonksiyondur. İlk kez Heyndrickx ve ark. tarafından 1975 yılında köpeklerde kısa koroner oklüzyon yaparak tanımlanmıştır.⁽⁶⁴⁾

Miyokardiyal stunning oluşumu ile ilgili çeşitli hipotezler ortaya atılmıştır.^(29,64) En geçerli hipotez oksijen ve kalsiyum toksisitesidir. Reperfüzyon safhasında serbest oksijen radikalleri savunma mekanizmalarının kapasitesini aşar ve bu durum oksidatif stres ile sonuçlanır. Sarkoplazmik retikulum veya

sarkolemmal seviyede membran hasarı oluşur ve kalsiyum homeostazisi değişir. Hücresel seviyede histopatolojik anormallikler saptanmaz.

Tekrarlayan stunning'e bağlı sol ventrikül disfonksiyonunda; koroner arter hastalarında aynı bölgede sık tekrarlayan iskemi atakları sonucu miyokardiyal hibernasyon gelişmektedir.

2.8. Miyokardiyal hibernasyon

Uzun süreli azalmış kan akımı veya artmış oksijen talebi ile seyreden uzamış kontraktıl disfonksiyondur. Miyokardiyal stunning'in tekrarlayıcı ataklarından sonra ortaya çıkar. Başlangıçta kronik stunning olarak değerlendirilmiştir. Stunning ve hibernasyonun ortak özelliği sol ventrikül disfonksiyonunun reversibl olmasıdır. Tekrarlayan stunning'in son safhası ve daha az stabil, daha az reversibl bir formu olarak kabul edilir. Biyopsilerde miyofibril içeriğinin kaybı, hücresel şişme ve artmış glikojen içeriği, kontraktıl proteinlerde bozulma ve miyokardiyal apoptoziste artış saptanmıştır.

Tablo 4: Miyokardiyal stunning ve hibernasyon arasındaki farklar

	Miyokardiyal stunning	Miyokardiyal hibernasyon
Özellikleri	a) Şiddetli iskemiye izleyen saatler, günler veya haftalar içinde oluşan geçici kontraktıl disfonksiyondur b) Koroner kan akımı normal olsa bile kontraktıl fonksiyonlar depresedir	a) Kronik bir olaydır b) Koroner kan akımı azalmıştır c) Reversibl miyokard vardır d) Kan akımı normale döndürüldüğünde anormallik geriye döner
Mekanizması	a) Oksijen kaynaklı serbest radikaller b) Kalsiyum homeostazisinde bozulma	a) Koroner kan akımındaki şiddetli azalma b) Miyokardda tekrarlayan reperfüzyon olayları
Tedavisi	a) Oksijen radikal temizleyiciler(scavenger) b) Ca kanal blokerleri c) Adenozin agonistleri d) K _{ATP} kanal açıcıları Volatil anestetikler (izofluran)	a) Hastanın semptomatik durumu önemlidir b) Koroner anatominin angioplasti veya cerrahiye uygunluğu önemlidir c) Canlı miyokard dokusunun varlığının gösterilmesi önemlidir d) Revaskülarizasyonsuz medikal tedavi hibernasyonda yetersiz kalmaktadır e) Gen tedavisi f) İskemik kalp hastalığına bağlı sol ventrikül fonksiyonlarındaki bozulma KABG ile düzeltilmektedir

2.9. Adrenerjik reseptörlerin farmakolojik özellikleri

Adrenerjik reseptörlerin farmakolojik tipleri arasında α -1 ve α -2 reseptörler bulunmaktadır. α -2 reseptörler tüm vücutta yerleşmişlerdir (SSS, damar düz kası gibi efektif organlar ve özellikle sempatik sinir sistemi tarafından innerve edilen dokular). Yapılan radyoligand bağlama çalışmalarında α -2 adrenoseptörlerin α -2a, α -2b α -2c ve α -2d subtipleri olduğu gösterilmiştir.

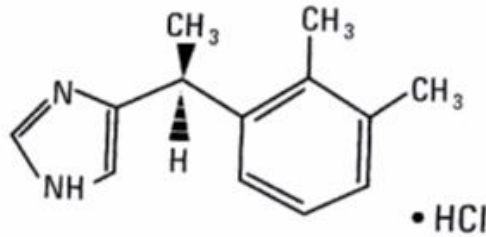
Tablo 5: α -2 agonist etkiye sahip ilaçlar

İlaç adı	T1/2(saat)	α -2/ α -1	Agonist etki
Klonidin	9	200	Parsiyel
Mivazerol	4	400	Pür
Deksmedetomidin	2	1600	Pür

Sempatik sinir uçlarındaki α -2 adrenoseptörlerin presnaptik aktivasyonu noradrenalin salınımını engellemektedir. SSS'deki postsnaptik aktivasyon ise sempatik aktivitenin inhibisyonuna, endotrakeal entübasyon ve cerrahi strese karşı oluşan hemodinamik yanıtta azalmaya, anestezi ve opioid ihtiyacında azalmaya, sedasyon, anksiyolizis ve analjeziye neden olur. Ek olarak spinal korda bulunan α -2 adreneseptörlere agonistlerin bağlanmasıyla analjezi sağlanır. SSS'deki çoğu adrenoseptörlerin noradrenerjik yollar ile beyin sapında özellikle de beyinde predominant noradrenerjik nükleus olan lokus seruleusda yüksek reseptör dansitesi vardır.

2.10. Deksmetomidin

Medetomidinin farmakolojik olarak aktif d-izomeri olan deksmedetomidinin moleküler ağırlığı 236,7 ve moleküler formülü $C_{13}H_{18}N_2 \cdot HCl$ 'dir.



Şekil 3: Deksmetomidin hidroklorürün kimyasal yapısı

pKA: 7,1, pH: 4,5-7 arasında olan deksmedetomidin berrak, renksiz, izotonik bir solüsyondur. Yaklaşık 6 dk'lık bir dağılım yarı ömrü ile hızlı bir dağılım fazı, ortalama 2 saatlik bir eliminasyon yarı ömrü vardır. Radyoaktif işaretlenmiş dozunun %95'i idrarla ve %4'ü dışkıda metabolize edilmiş olarak elimine edilir. Major atılım metabolitleri glukuronoidlerdir. Deksmetomidin %94 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Deksmetomidinin invitro olarak CYP2D6'yı inhibe ettiği gösterilmiştir, fakat bu inhibisyonun klinik önemi tam olarak değerlendirilememiştir. Ayrıca sitokrom P450 sistemi ile metabolize olan ilaçlarla çok az etkileşim göstermektedir.⁽⁶⁵⁾

Sağlıklı erkek gönüllülerde deksmedetomidinin biyoyararlanımı değerlendirilmiş olup peroral, bukkal ve intramusküler uygulama sonrasında biyoyararlanım sırasıyla %16 (%12-20), %82 (%73-92) ve %104 (%96-112) olarak saptanmıştır.⁽⁶⁵⁾

IM uygulamada maksimum konsantrasyona 1,6-1,7 saatte ulaşmaktadır. Bu süre transdermal uygulamada 6 saattir ve biyoyararlanım %88'dir.⁽⁶⁶⁾

Deksmetomidinin sedatif etkilerinin primer olarak post-sinaptik α -2 adrenoseptörler aracılığıyla gerçekleştiği düşünülmektedir. α -2 selektivitesi, düşük ve orta derecedeki dozların yavaş verilmesiyle görülmektedir. α -2 adrenoreseptörlerin noradrenerjik transmisyonunda azalmaya neden olarak, insanlarda ve hayvanlarda anestezik koruyucu etkiye sahip oldukları bildirilmiştir. α -2 adrenoreseptörler volatil anestetikler ve intravenöz anesteziklerin ihtiyacını azaltmakla birlikte analjezik ve opioid koruyucu etkiye de sahiptirler.⁽⁶⁷⁾

Kullanım Endikasyonları ve Dozu

Deksmedetomidinin tek başına anestezi indüksiyon ajanı olarak kullanım endikasyonu yoktur. Daha çok postoperatif sedasyon ve anestezi idamesinde adjuvan ajan olarak kullanılır. α -2 adrenoseptör agonistlerinin sedatif, anksiyolitik ve analjezik özellikleri premedikasyon amaçlı kullanım için ilgi çekmiş ve bunlar içinde de en çok klonidin ve deksmedetomidin üzerinde yoğunlaşmıştır.⁽⁶⁸⁾ Hatta düşük doz deksmedetomidin infüzyonunun bunlara ek olarak amnezik özellik taşıdığı da gösterilmiştir.⁽⁶⁹⁾ Endotrakeal entübasyon sırasında gelişen hemodinamik değişiklikleri azaltması, intraoperatif dönemde hemodinamik stabilite sağlaması, anestezi ve analjezi gereksinimini azaltması önemli avantajlarıdır.^(70,71)

Deksmedetomidinin sevofluran ile kullanımında anlamlı derecede düşük MAK gereksinimi olduğu gösterilmiştir.⁽⁷²⁾ Cerrahi işlemden 15 dk önce 0,33-0,67 μ g/kg deksmedetomidin IV olarak verildiğinde etkili bir sedasyon oluşturur. Bu doz aralığında kullanıldığında endotrakeal entübasyona hemodinamik yanıtı azaltır.⁽⁷³⁾ Ancak IV yolla ani hemodinamik değişiklikleri önlemek için ani bolus tarzında uygulanmaz. IV kullanımda enjeksiyon en az 10-15 dk'da yapılmalıdır ve infüzyona devam edilecekse bu süre zarfındaki yükleme dozundan sonra devam edilmelidir. 24 saatten uzun süreli infüzyonlar yeterli çalışma bulunmadığından önerilmemektedir. Birçok çalışmada deksmedetomidinin postoperatif mekanik ventilasyon desteği gereken hastalarda sedasyon amacı ile kullanılan propofole alternatif olduğu gösterilmiştir. Ayrıca pek çok çalışmada sedasyon amacı ile deksmedetomidin kullanıldığında ventilatörden ayrılma (weaning) sırasında

gözlenen hemodinamik değerlerin daha stabil olduğu gösterilmiştir.⁽⁷⁴⁾ İntraoperatif sedasyon için 1 µg/kg yükleme dozunun 10-15 dk'da verilmesi uygun olur. Yükleme dozunun ardından 0,3-0,7 µg/kg/saat idame dozuna geçilebilir.⁽⁷³⁾ α-2 agonistler morfinin analjezik etkisini potansiyalize ederler ve cerrahi sonrası analjezik kullanımını %10-15 oranında azaltırlar. Bu etki sempatik sinir uçlarında ve spinal kordda adreno reseptörlerin stimülasyonu sonucu olabilir. Deksmetomidinin analjezik koruyucu etkisi preemtif analjezik etki veya residüel aditif etki ile açıklanabilir. Uzun süreli α-2 agonist kullanımından sonra α-2 agonistlerin ani kesilmesi sonucu tehlikeli hipertansiyon, anksiyete, tremor, baş ağrısı, bulantı ve kusma ile karakterize kesilme sendromu görülmektedir. Bu kesilme sendromu labetalol ile başarılı bir şekilde tedavi edilebilir.⁽⁷⁵⁾ Selektif bir α-2 antagonist olan atipamezol 50 µg/kg dozda, deksmedetomidinin IM 2 µg/kg dozda oluşturduğu sedasyonu ortadan kaldırır. Bu geri dönüşürücü etki, midazolamın eş sedatif dozundan daha hızlı gerçekleşir.⁽⁷³⁾

Kardiyovasküler cerrahide kullanımı

Deksmetomidin analjezi oluşturması, santral ve periferik mekanizmalarla hemodinamik stresi azaltması ve sedasyon sağlaması nedeniyle kardiyovasküler cerrahide de kullanım alanı bulmaktadır. Koroner arter cerrahisinde anestezi indüksiyonundan 30 dk önce 50 ng/kg/dk ve cerrahi bitimine kadar 7 ng/kg/dk deksmedetomidin infüzyonunun kan norepinefrin düzeyini, intraoperatif hipertansiyon insidansını ve fentanil gereksinimini azalttığı gösterilmiştir. Yüksek

dozlarda (1 µg/kg ve üzeri) hipertansiyon ve taşikardiye karşı miyokardın enerji gereksinimini azaltmaktadır.⁽⁷⁶⁾

Deksmedetomidinin bolus uygulamalarında görülen hemodinamik değişiklikler bifaziktir. 2 µg/kg deksmedetomidinin hızlı IV enjeksiyonu kan basıncında uygulama öncesine göre %22 artış ve kalp hızında %27 azalmaya neden olur. Bu değişiklikler enjeksiyondan beş dk sonra oluşur. Kan basıncı artışı muhtemelen deksmedetomidinin periferik α-2 reseptörler üzerindeki etkileri ile ilişkilidir. Kalp hızı 15 dk sonra başlangıç hızına döner, kan basıncı ise iki saat sonra başlangıç değerinin %15 altına iner. Benzer dozda deksmedetomidin IM uygulandığında başlangıçtaki kan basıncı artışı görülmez, hem kan basıncı hem de kalp hızındaki değişiklikler bazal değerlerden sadece %10 oranında farklılık gösterir.⁽⁷³⁾ Farklı çalışmalarda, deksmedetomidinin hem IM hem de IV uygulamalarında nadiren de olsa bradikardi ve sinüs arresti oluşturabileceği gösterilmiştir. Hayvan modellerinde deksmedetomidinin iskemik kalpte oksijen tüketimini azalttığı, akut oklüzyonda kan akımını noniskemik zondan iskemik zona yönlendirdiği gösterilmiştir.⁽⁷⁷⁾

Revaskülarizasyon sırasında esmolol tedavisine yanıt vermeyen intraoperatif taşikardi durumunda deksmedetomidin ile kalp atım sayısı azaltılabildiği belirtilmiştir.⁽⁷⁸⁾

Deksmedetomidinin serebral fizyoloji üzerine etkileri ve nöroanesteziye kullanımı

Alfa-2 adrenoreseptörler serebral vasküler yatakta oldukça geniş bir yayılım

gösterirler ve bu reseptörlerin aktivasyonu spesifik bir vazokonstriktif yanıtı neden olur. Kortikal kan damarlarında presinaptik α -2 adrenoreseptörlerin aktivasyonu norepinefrin salınımını azaltırken, postsinaptik α -2 adrenoreseptörler vasküler düz kastaki tonüsü artırabilir. Böylece, deksmedetomidin infüzyonu hem direkt olarak (α -2 agonistlerle ilişkili kalsiyum akışında artma) vasküler düz kas konstrüksiyonunu tetikler, hem de indirekt yoldan santral sempatik aktivite de değişiklikler yapar ve serebral metabolik oranı azaltarak serebral kan akımını etkileyebilir. Serebral damarlarda oldukça yaygın bulunmalarına karşın serebral kan akımının kontrolü ve serebrovasküler reaktivite üzerine etkileri tam açık değildir. Dekmedetomidinin neonatal dönemde de nöroprotektif etkiye sahip olduğu, korteks ve beyaz cevherde eksitotoksik lezyonları önlediği belirtilmiştir.⁽⁷⁹⁾

Kontrollü hipotansiyon ve deksmedetomidin

Deksmedetomidin kalp atım hızı (KAH) ve ortalama arter basıncını (OAB) azalttığı için kontrollü hipotansiyonda faydalı bir ajan olabilir. Refleks taşikardiye yol açmaması ve sempatik sistem yanıtını bloke etmesi avantajlarıdır.⁽⁶⁶⁾

Analjezi ve deksmedetomidin

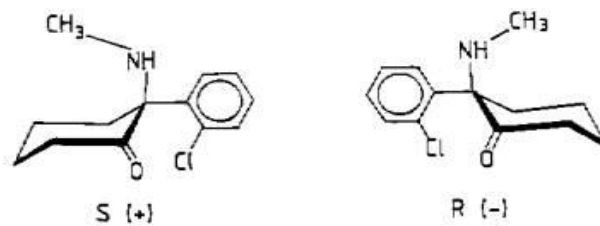
Deksmedetomidin, analjezi oluşturması, santral ve periferik mekanizmalarla hemodinamik stresi azaltması nedeniyle postoperatif ağrı tedavisinde kullanılabilecek bir ajan gibi görülmektedir. Uzun süredir klinik kullanımda bulunan klonidin bu konuda üzerinde en fazla çalışılan ilaçtır. Klonidin

imidazolin sınıfından bir α -2 adrenerjik agonist olmakla beraber bir miktar α -1 agonist özelliği de sahiptir. Deksmedetomidinin de analjezik etkisi araştırılmıştır. α -2 agonistler morfinin analjezik etkisini potansiyalize ederler ve cerrahi sonrası analjezik kullanımını %10-15 oranında azaltırlar. Bu etki sempatik sinir uçlarında ve spinal kordda adrenoseptörlerin stimülasyonu sonucu olabilir. Deksmedetomidinin analjezik koruyucu etkisi pre-emptif anajezik etki veya rezidüel aditif etki ile açıklanabilir.

Sonuç olarak, sempatik aktivitenin inhibisyonu ve hemodinamik yanıtta azalma, anestezi ve opioid koruyucu etki ile birlikte sedasyon, anksiyolizis ve analjezi oluşturması nedeniyle deksmedetomidin, günümüzde anestezi pratiğinde birçok alanda yaygın kullanım alanı bulmaktadır. Deksmedetomidin ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir.⁽⁶⁶⁾

2.11. Ketamin

Disosiyatif anestezikler fensiklidin türevidirler. 1962 yılında Stevens ve Mc Carthy tarafından sentezi yapılmış, 1965 yılında Domino Corssen tarafından klinikte kullanılmış, ideal bir intravenöz anestezi olarak nitelendirilmiştir. 1970 yılında klinik kullanım için serbest bırakılmıştır. 1997 yılında S-(+) ketamin klinik uygulamaya sokulmuştur.



Şekil 4: Ketaminin enantiyomerleri; S-(+), R-(-) ketamin

Molekül ağırlığı 274, pKa değeri 7,5 olan suda eriyen beyaz kristaller halinde bulunur. Solüsyonların pH'sı 3,5-5,5 civarındadır. Solüsyonları koruyucu madde olarak Benzethonium klorid içerir. 1 ml'si 10 mg (%1), 50 mg (%5) S-(+) ketamin içeren preparatları bulunur.⁽⁸⁰⁾ Güçlü analjezik ve amnestik etkiye sahip olan tek intravenöz anestezi maddesidir. Analjezik etkisi daha ziyade somatik ağrılar üzerine dominant olup kardiyovasküler ve respiratuar sistem üzerine diğer intravenöz anesteziğin aksine depresan etkisi yoktur. Ketamin alan hasta normal uyku hali olmaksızın çevre ile ilişkisi kesilmiş tipik bir kataleptik durumdadır.^(80,81) α -1 asit glikoproteine bağlanıp IV enjeksiyon sonrası kısa sürede kan beyin bariyerini aşp beyinde yoğunlaşır. Dağılım yarı ömrü 11-17 dk eliminasyon yarı ömrü 2,5-4 saattir. IV 2 mg/kg dozda etkisi 30-60 sn içinde başlar. Uyanma süresi 10-15 dk kadardır. Etkinin kısa sürmesinin nedeni, beyin dokusundan hızlı bir şekilde, kanlanması bol olan diğer dokulara dağılmasıdır.^(73,80,82)

Metabolizması

Ketamin, ağırlıklı olarak karaciğerde sitokrom P450'ye bağımlı detoksifikasyondan sorumlu mikrozomal enzimlerce metilasyon yoluyla metabolize edilir. Çok az bir kısmı diğer dokularda biyotransformasyona uğrar. En önemli metaboliti demetilasyon ile ortaya çıkan norketamindir. İkinci metaboliti hidroksinorketamin'dir. Norketamin ve hidroksinorketamin suda çözünen glukronid derivelerine konjuge edilirler ve %9'u idrarla, %4'ü gaita ile geri kalanı değişmeden atılırlar. Norketamin'in aktifliği ketamine göre 1/5–1/3

oranında düşüktür. Ketaminin büyük bir kısmı değişmeden dokularda kalmaktadır ve tekrarlayan dozlarda veya sürekli uygulamalarda vücutta birikmektedir.^(73,81,83)

Etki mekanizması

İlk olarak beyindeki asosiyasyon yollarını bloke eder. Bundan sonra retiküler aktive edici ve limbik sistemler etkilenir. Talamokortikal sistem deprese olurken, limbik sistemin aktivasyonu sonucu, beynin bu iki bölgesi disosiyeye olur. Ketamin'in oldukça kuvvetli analjezik etkisi vardır. Santral etki yanında, spinal kord arka boynuz nöronlarını da etkilemektedir. Ketaminin NMDA reseptörlerini doğrudan veya dolaylı olarak etkilediği gösterilmiştir. NMDA reseptörleri, ketaminin postsinaptik nöronal etki yeridir. NMDA reseptörleri lumbal spinal kordu da içeren santral sinir sisteminde bir uçtan diğer uca kadar bulunur.⁽⁸⁴⁾ Etki süresi doza bağlıdır. Bilinç, 1 mg/kg'lık dozun IV enjeksiyonundan 3-10 dk sonra dönmeye başlarken, 2 mg/kg'lık dozdan sonra bu süre 10 dk'nın üzerindedir. IM uygulamada ise bilincin dönmesi 20-40 dk sürebilir. Ancak bilinç döndükten sonra hasta çevresi ile ilgisizdir ve sözel ilişki kurmak bir saat sürebilir. Daha sonraki saatlerde yorgunluk, uykuya meyil, görme bulanıklığı olabilir.^(81,83)

Sonuçta; ketaminin analjezik, amnestik, anestezik ve psikomimetik etkilerinin hangi sellüler ve moleküler mekanizmalarla oluştuğu konusunda kesin bilgiler yoktur.

Ketaminin etki mekanizması ile ilgili kabul edilen görüşler

1. NMDA kanal reseptörleri üzerine etki ederek analjeziye, amneziye, anesteziye ve psikomimetik etkilere neden olduğu,
2. Opiat reseptörlerine etki ederek analjezi ve psikomimetik etkilere neden olduğu,
3. Muskarinerjik ve nikotinerjik asetilkolin reseptörlerine etki göstererek analjezi, anestezi ve muhtemelen psikomimetik etkilere neden olduğu,
4. Monoamin nörotransmitterler üzerinden analjezi, semptomimetik ve bronkodilatör etkilere neden olduğu,
5. GABA reseptörlerine etkisinin sınırlı olduğu kabul edilmektedir^(80,85-87)

Kardiyovasküler sistem üzerine etkileri

Ketamin kardiyovasküler sistem üzerine uyarıcı etkisi olan tek IV anesteziktir. Arteriyel kan basıncı ve kalp atım hızı %30 artar, bu artış 20-30 dk içinde normale döner. Pulmoner arter basıncı, sağ ventrikül atım işi ve pulmoner vasküler direnç artar. Ketamin katekolaminlerin intranöral geri alımını inhibe ederek kokain benzeri etkiye neden olur ve ektranöral norepinefrin alımını inhibe eder.^(88,89)

Solunum sistemi üzerine etkileri

Ketaminin santral respiratuar merkeze etkisi minimal olup, CO₂'e cevabı değiştirmez. Başlangıçta solunumda geçici ve hafif depresyon olur. Ancak hava yolu açıktır. Bronkodilatör etkisi vardır.⁽⁹⁰⁾ Üst solunum yolu düz kaslarında

(bronşiyal) histaminin spazmojenik etkisi üzerine antagonize edici etkiye sahiptir. Ayrıca ketaminin adrenalinin antispazmojenik etkisini potansiyalize ettiği bilinmektedir.⁽⁸⁰⁾ Anestezi veya analjezi amacıyla tek başına kullanılan ketamin, arteriyel kan gazlarına etki etmez. Reaktif hava yolu hastalığı ve bronkospazm olan hastalarda pulmoner kompliyans düzelir. Bu etkisi nedeniyle konvansiyonel tedaviye yanıt vermeyen status astmatikus tedavisinde başarıyla kullanılmaktadır. Çocuklarda ketamin uygulanması sonucu potansiyel tehlike; trakeobronşiyal ve tükürük sekresyonundaki artıştır. Bu durum, üst solunum yollarında obstrüksiyona neden olur. Sonuçta laringospazm gelişebilir. Mutlaka atropin veya glikopirolat gibi vagolitik ajanlarla birlikte kullanılmalıdır.⁽⁸³⁾

Santral sinir sistemi üzerine etkileri

Ketamin talamokortikal ve limbik sistemin fonksiyonel ve elektrofizyolojik olarak ayrılmasına neden olur. Hasta normal uyku hali olmaksızın çevre ile ilişkisini kesmiş tipik kataleptik durumdadır. Ketamin sonrası hızlı bir şekilde derin analjezi ve amnezi gelişir. Analjezi daha ziyade somatik ağrılar üzerinde etkilidir. Yüksek yağda erirliği nedeniyle hızlı bir şekilde kan-beyin bariyerini aşar ve 30-60 sn içinde etkisi gözlenmeye başlar. Ketamin anestezisi altında sıklıkla rahatsız edici rüyalar, vizuel halüsinasyonlar gelişir. Hastalar postoperatif dönemde çift görmeden, vücutlarının değiştiğinden, boşlukta dolaştıklarından şikâyet ederler. Bu şikâyetler premedikasyonda benzodiyazepinlerin kullanılması ile azaltılabilir. Postoperatif 30-60 dk içinde kaybolurlar. Ketamin beyin damarlarını dilate edip beyin kan akımını %60'a kadar artırarak kafa içi basıncını

yükseltir. Bu nedenle intrakraniyal yer kaplayan kitlesi olan hastalarda kullanılmamalıdır.⁽⁹¹⁾

Kas ve iskelet sistemi üzerine etkileri

Anestezi yüzeyel iken görülebileceği gibi, yeterli derinlikte de olsa kas tonusu artışı, istemsiz hareketler ve ekstremitelerde tonik hareketler olabilir. Bu belirtiler anestezinin yetersizliği şeklinde değerlendirilerek ilaç tekrarlanmasına ve aşırı doz uygulamasına yol açabilir. Süksinilkolin, tubokurarin ve pankuronyum gibi kas gevşeticilerin etkilerini potansiyalize eder. Serum K^+ değerlerini hafifçe düşürür. İmmün sistemi deprese etmez. Bu etkisi yanıklı ve kemoterapi almakta olan direnci düşük hastalarda ketaminin tercih edilmesi için bir neden olabilir.⁽⁸¹⁾

Diğer sistemler üzerine etkileri

Glomerüler filtrasyon ve böbrek kan akımı üzerine direkt etkisi yoktur. Karaciğere toksik etkisi yoktur. Plazma histamin düzeyini artırır ve hızlı enjeksiyon sonrası eriteme benzer cilt değişikliklerine neden olabilir. Kan şekerini %12 oranında yükseltmektedir.⁽⁸¹⁾

Klinik kullanımı

Kısa süreli vücut yüzeyi ile ilgili cerrahi müdahalelerde (yanık pansumanları gibi), hipotansif hastalarda IV anestezi indüksiyonunda, bronkospastik hava yolu hastalıklarında, valvüler iskemik kalp hastalıklarında, ağrılı blok uygulamalarında,

ameliyathane dışı pediatrik hastalarda (kardiyak kateterizasyon, radyoterapi, radyolojik incelemelerde) ve şoktaki hastalarda kullanılır.

Doz ve uygulama

Doz aralığı intravenöz uygulama için 1-2 mg/kg, IM uygulama için 5-10 mg/kg'dır. IV uygulama ile etkisi 30-60 sn içinde başlar ve 5-10 dk sürer. Analjezik etkisi 40 dk, amnezi etkisi 2 saat sürer. IM uygulama ile 2-6 dk'da anestezi sağlanır ve etkisi 10-30 dk'da sona erer.⁽⁸¹⁾

Kontrendikasyonları

İskemik kalp hastalıkları, şiddetli veya kontrol edilmemiş hipertansiyon, intrakraniyal veya intraoküler basıncı yüksek olan hastalar, epilepsi, hipertiroidi ve psikiyatrik hastalığı olan hastalarda kontrendikedir.^(73,84) Üst solunum yollarının duyarlılığını artırdığı için; ağız, farenks veya hava yolu operasyonları için uygun bir ajan değildir.^(73,81)

2.12. Hayvan deneylerinde ratların kullanımı

Laboratuvarda kolay üretilibilmeleri, sakin olmaları, kardiyak kollateral dolaşımlarının az olması ve daha önceki miyokardiyal I/R modellerinde kullanılmaları nedeniyle deney hayvanı olarak rat seçtik.

Tablo 6: Ratların genel fizyolojik bilgileri⁽⁹²⁾

Parametre	Ortalama değ�er
Yaşam s�uresi (yıl)	2,5-3,5
Rektal vücut ısısı (�C)	35,9-37,5
Vücut ağırlığı (gr)	250-520
Kalp atım hızı (atım/dk)	250-450
Sistolik arter basıncı (mmHg)	88-184 (116)
Ortalama arter basıncı (mmHg)	78-171 (99)
Diyastolik arter basıncı (mmHg)	58-145 (90)
Solunum sayısı	100-150/dk

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamız Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından, G.Ü. ET-11.078 kod numarası ile etik kurul izni alındıktan sonra (30.06.2011) Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)'inde Şubat-2012 tarihinde gerçekleştirildi.

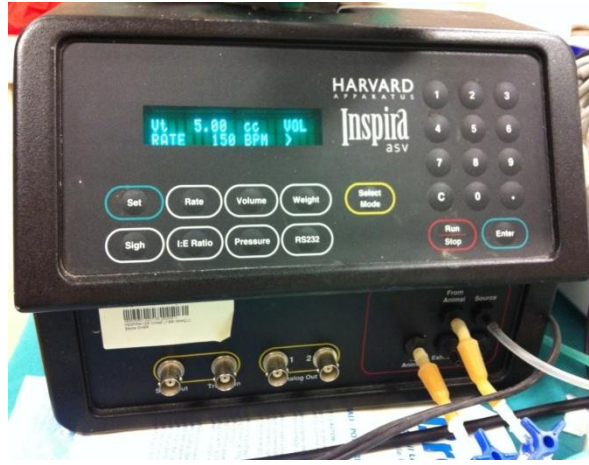
3.1. Denek seçimi

Çalışmada 18 adet 275-335 gr ağırlığında Wistar cinsi erişkin erkek ratlar kullanıldı. Ratlar, araştırma başlangıcına kadar 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ortamda barındırılarak ortama adaptasyonları sağlandı. Ratlar, ışık ve sıcaklığı standardize edilmiş ortamda bakıldı. Standart rat gıdası (pellet yemi) alan hayvanlara işlem öncesi herhangi bir sıvı ve yem kısıtlaması uygulanmadı. Çalışma; in vivo, randomize, kontrollü, tek-kör, prospektif bir deneysel I/R modeli esas alınarak yapıldı.

3.2. Kullanılan yöntem

Ratlar işlem öncesi kapalı fanusa yerleştirilerek inhalasyon yoluyla izofluran (İsoflurane® İnhalasyon Solüsyonu, Adeka, Türkiye) uygulandı. İzofluran kullanılarak yapılan anestezi indüksiyonu sonrasında spontan solunumu olan ve uyuyan ratlar ameliyat masasına alınarak maske ile izofluran uygulamasına devam edildi. Supin pozisyonda yatırılıp cerrahi sahaları tıraş edildikten sonra boyun orta hatta yaklaşık 1 cm'lik vertikal insizyon yapıldıktan sonra künt diseksiyonlarla trakeaya ulaşıldı ve 16G intraket (Medipro Nova Cath® İstanbul, Türkiye) ile

trakeostomi açıldı. Mekanik ventilatöre (Harvard Apparatus Rodent Model Ventilator, Inspira asv, Hollstone, ABD) bağlanan ratlara işlem süresince %100 oksijen ile tidal volüm 15 ml/kg ve solunum frekansı 80/dk olacak şekilde ratların sakrifikasyonuna kadar inspiratuar %0,8-1 konsantrasyondan izofluran anestezisi uygulanarak anestezinin devamı sağlandı.



Resim 1: Mekanik ventilatör (Harvard Apparatus Rodent Model Ventilator, Inspira asv, Hollstone, ABD)

Ekstremitelere elektrokardiyografi (EKG) lead'leri subkutan yerleştirilerek (DII) EKG monitorizasyonu yapıldı. Damar yolu için; kuyruk distalinden ven ve invaziv arteriyel monitorizasyon için kuyruk proksimalinden arter kanülasyonu yapıldı. İşlem süresince rektal ısı ve ayak palmar yüzünden ölçülen SpO₂ monitorize edildi. Sıcak ped yardımıyla vücut ısı 36,4 -37,2°C arasında, SpO₂ ise %96 - %100 arasında tutuldu.



Resim 2: Ratın trakeostomi ve torakotomi sonrası görüntüsü

Kuyruk arterinin kanülasyonunda başarılı olunamayan 5 ratta sağ karotis arteri kanüle edildi. Bütün işlem boyunca sistolik, diyastolik ve ortalama arteriyel basınçları ve kalp hızı takip edildi. Arteriyel basınçlar ve kalp hızı cerrahi işlemden 10 dk önce, kalbin sol ön inen arteri (Left Anterior Descending Artery-LAD) oklüzyonundan 20 dk sonra ve reperfüzyondan 20 dk sonra kaydedildi.



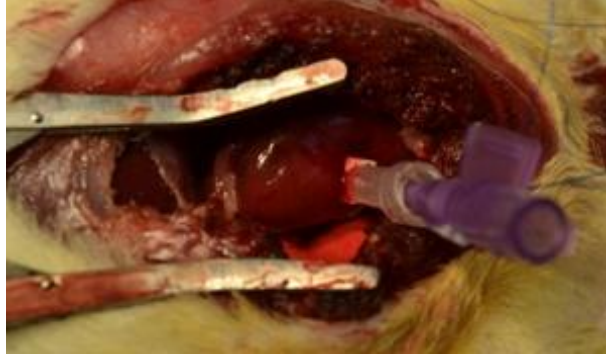
Resim 3: İşlem sırasında monitörden alınan EKG, invaziv arter, SpO₂ ve rektal ısı görüntüsü

Çalışmada deney hayvanı olarak kullanılan 18 rat; Grup I/R (n=6): kontrol, Grup I/R-K (n=6): ketamin, Grup I/R-D (n=6): deksmedetomidin olarak rastgele üç gruba ayrıldı. IV damar yolu açıldıktan sonra IV ketamin veya deksmedetomidin veya kontrol grubuna ise bu ajanlar yerine serum fizyolojik (SF) ilave edilerek mayi verilme hızı bütün ratlarda 10 ml/kg/saat olacak şekilde standardize edildi. Ketamin grubuna IV 1 mg/kg/dk ketamin (Ketalar® 500 mg enjektabl flakon Pfizer, Türkiye) infüzyonu (Perfusor® Compact Syringe Pump Braun Melsungen AG, Almanya) uygulandı. Deksmetomidin grubuna 10 dk boyunca IV 1µ/kg yükleme dozu verildikten sonra 1 µ/kg/saat infüzyon şeklinde deksmedetomidin (Precedex® IV Konsantre infüzyon çözeltisi içeren flakon 200 µg/2 ml, Abbott, Türkiye) olacak şekilde standart volüm içindeki dozu ayarlanarak verildi.

Bütün ratların göğüs boşluğu sol torakotomi ile açıldı. Cilt altı ve kas tabakaları elektrokoter yardımı ile geçilerek sternumun 2 mm solundan 4. ve 5. kostalar kesilerek kalbe ulaşıldı. Perikard açılarak göğüs kafesinin sağ tarafından hafif bir basınç uygulanarak kalp kaldırıldı. Sol atrium appendiksi, trunkus pulmonalis ve LAD, 2,5 büyütme büyüteç (Designs for vision USA) yardımıyla görülerek LAD'nin yeri netleştirildi.



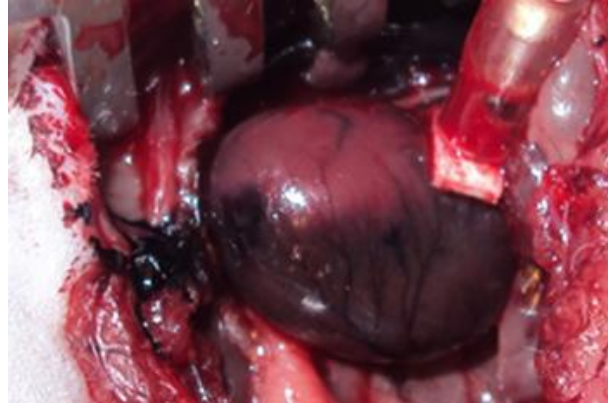
Resim 4: Perfusor® Compact Syringe Pump Braun Melsungen AG, Almanya



Resim 5: Rat kalbinde LAD oklüzyonu sonrasında görülen ciddi renk değişikliği

Yuvarlak iğneli 10mm 5/0 keçeli (pledgedli) vicryl suture ile LAD proksimalinden bir miktar miyokard dokusunu da içine alacak şekilde geçildi. Koroner arterde tromboz oluşumunu önlemek amacıyla IV 50 IU/kg heparin (Nevparin® flakon 5000 IU/ml Mustafa Nevzat İlaç San. A.Ş, Türkiye) uygulandı. Daha sonra hemodinamik stabilizasyonu sağlamak için kalp göğüs kafesine tekrar yerleştirildi ve 10 dk beklendi. Bu işlem zamanı ciddi aritmileri olan veya sistolik kan basıncı 60 mmHg'nin altında kalan ratlar çalışma dışı bırakıldı. (I/R grubundan 2 ratta ve deksmedetomidin grubundan 1 ratta dirençli ventriküler fibrilasyon gelişti ve çalışma dışı bırakıldı). Koroner oklüzyonu sağlamak için LAD'den geçilmiş iplik 1,5 mm çap ve 1,5 cm boyunda plastik tüp içinden geçirildi. Bu iplik sıkılarak iskemi, daha sonra gevşetilerek reperfüzyon sağlandı. Kardiyak iskemi; ciddi miyokardiyal renk değişikliği, EKG değişikliği, arteriyel kan basıncındaki azalma ve LAD sahasının kontraksiyonunda gözle görülen bozulma (hipokinezi) ile teyid edildi. İnsensibl kaybı azaltmak için torakotomi insizyonu 2/0 ipek suturelerle geçici olarak birbirine yaklaştırıldı ve üzerine ılık gazlı kompres konuldu. 45 dk'lık iskemi süresi sonunda sner gevşetilerek

reperfüzyon dönemi başlatıldı. Reperfüzyon, morfolojik olarak görülen LAD sahasındaki siyanozun azalması ve kaybolması, hipokinezi düzelme, EKG değişikliği ve arteriyel kan basıncındaki artma ile teyid edildi. 120 dk'lık reperfüzyon dönemi sonunda toraks yeniden açıldı ve snar ile LAD tekrar oklüde edildi. Sağ atriya enjekte edilen 1,5 ml (%2'lik) Evans mavisinin (Sigma-Aldrich®, Almanya) ardından 3 dk'lık reperfüzyon yapıldı. Bu işlemin sonunda non-iskemik miyokardiyal alanın koyu maviye boyandığı, iskemik miyokardiyal alanın ise boyasız kaldığı gözlemlendi.

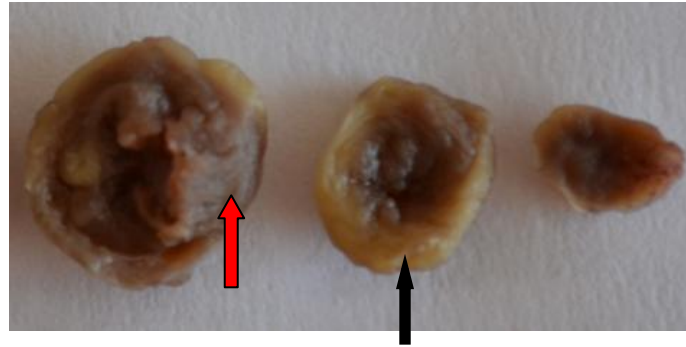


Resim 6: Evans mavisi verildikten sonra I/R'dan etkilenen boyanmamış (pembe) alan ve non-iskemik (mavi) alanın görünümü

Böylece geriye dönük olarak, işlemin başlangıcındaki LAD oklüzyonunun doğruluğu bir kez daha teyid edilmiş oldu. Ratların sakrifikasyonunu takiben iskemik alan olan sol ventrikül anterolateral miyokardiyumundan örneklemeler yapıldı. Alınan doku örnekleri, eppendorff tüplerine konularak analiz edilene kadar -80°C'de muhafaza edildi.



Resim 7: Reperfüzyon sonrasında ekstrakte edilen rat kalbi. Pembe renkli alan LAD oklüzyonu ile perfüzyonu ortadan kaldırılmış sol ventrikül anterolateral bölgesi, mor alan ise perfüzyonu devam eden diğer miyokardiyal alanlardır (Evans mavisi ile boyanmış)



Resim 8: Reperfüzyon sonrasında ekstrakte edilen rat kalp sol ventrikülünün enine kesiti. Sarı avasküler görünümlü (siyah ok) alan LAD oklüzyonu ile perfüzyonu ortadan kaldırılmış sol ventrikül anterolateral bölgesi, mor-kırmızı koyu renk boyanmış (kırmızı ok) alan ise perfüze olan miyokardiyal alanlardır. (Evans mavisi ile boyanmış)

3.3. Biyokimyasal analizler

Oluşan lipid peroksidasyonu düzeyinin tayini için MDA, antioksidan cevabın derecesinin belirlenmesi için ise süperoksit radikale karşı oluşan SOD ve H_2O_2 ile savaşılan GSH-Px'in kalp dokusu düzeylerinin ölçümü yapıldı. Bu tetkiklere ait sonuçları sayısal olarak ifade edebilmek için, ek olarak doku protein düzeyleri de hesaplandı.

3.3.1. Kalp dokusunun homojenizasyonu

Tüm bu tetkiklerden önce, eldeki kalp dokularının analizleri için hazır hale getirilmesi gerektiğinden, dokular -80°C 'deki derin dondurucudan çıkartılarak çözünmesi sağlandıktan sonra fosfat tampon ile 1/9 hacim oranında karıştırılarak Retsch® Mixer Mill MM 400 model homojenizatör ile homojenize edildi ve bir kısmı MDA bakılması için ayrıldı. GSH-Px ve SOD analizleri sırasıyla süpernatant ve ekstrede bakıldığından, elde edilen homojenatların diğer kısmı, 700 devirde 10 dk santrifüj edilerek süpernatantlar, süpernatantların da kloroform-etanol (3,5 oranında) karışımı ile santrifüjlerinden ekstreler elde edildi. Fosfat tampon (50 mM); distile sudaki 6,8 gr/L oranındaki KH_2PO_4 çözeltisi üzerine pH 7,4 olana kadar yine distile suda 7,1 g/L oranında çözünmüş Na_2HPO_4 ilave edilerek hazırlandı.

3.3.2. Protein ölçümü

Lowry'nin tarif ettiği yöntem kullanılmıştır.⁽⁹³⁾ Protein ölçümleri; MDA ve PCO için homojenatta, GSH-Px için süpernatanda, SOD için ise ekstrede ayrı ayrı yapıldı. Kimyasal bileşikler olarak CuSO_4 , Na_3Sitrat , Na_2CO_3 , NaOH ve Phenol-Folin-Ciocalteu reaktifleri kullanıldı. Bunlar aşağıdaki oranlarda çözdürülerek; A, B, C ve D reaktifleri hazırlandı.

A reaktifi: 0,5 gr $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ve 1 gr Na_3Sitrat (susuz) 100 ml distile suda çözüldü.

B reaktifi: 20 gr Na_2CO_3 ve 4 gr NaOH , 1 L distile suda çözüldü.

C reaktifi: 50 ml B çözeltisine, 1 ml A çözeltisi ilave edildi. A ve B reaktifleri hazırlandıktan sonra numune sayısına göre C reaktifi hemen taze olarak hazırlanıp bekletilmeden kullanıldı.

D reaktifi: Phenol-Folin-Ciocalteu reaktifi

Her numuneden 10 µl, distile sudan 490 µl, C reaktifinden 2500 µl alınarak 10 ml'lik cam tüplere alındı ve 10 dk beklendi. Kör tüpüne ise numune konulmayıp distile su ilave edildi. Daha sonra bunların üzerine 250 µl D reaktifi eklenerek vortekslendi. 20-30 dk oda ısısında inkübe edilerek her bir tüpten 300 µl Elisa kuyucuklarına pipetlenerek 700 nm'de köre karşı okundu.

3.3.3. Lipid Peroksidasyonu Düzeyinin Tayini

Meydana gelen lipid peroksidasyonunun belirlenmesi için MDA ölçümü yapılmıştır.⁽⁹⁴⁾ Bu amaçla %10'luk triklorasetik asit (TCA) ve %0,675'lik TBA kullanıldı. Vidalı kapaklı 10 ml'lik deney tüplerine 2,5 ml %10'luk TCA ve bunun üzerine 0,5 ml numune (homojenat) ilave edilerek 3–5 sn vortekslendi. Tüpün ağzı kapatılarak 90°C'de 15 dk inkübe edildi. Soğuk çeşme suyu ile soğutuldu. 3000 devirde 20 dk santrifüj edildi. Bu şekilde elde edilen süpernatantlardan 2 ml alınarak üzerlerine 1 ml %0,675'lik TBA eklendi ve tekrar vortekslendi. Tüplerin ağzı kapatılarak yeniden 90°C'de 15 dk inkübe edildi. Soğuk çeşme suyu ile soğutulduktan sonra 532 nm'de köre karşı okundu. Hesaplama, TBA-MDA kompleksinin ekstinksiyon katsayısından ($1,56 \times 10^5$ cm/M) yararlanılarak mmol/gr-prot cinsinden MDA değerleri hesaplandı.

3.3.4. Protein Karbonil Düzeyinin Tayini

Protein karbonilasyonunu Levine ve ark.'nın yöntemi ile tayin edildi⁽⁹⁵⁾

Yöntemde aşağıdaki reaktifler kullanıldı:

- 2 M HCl; 50 ml distile suya 8,28 ml HCl eklenerek hazırlandı
- 10 mM 2,4-Dinitrophenylhydrazine (2,4-DPH); 50 ml 2 M HCl çözeltisine 0,09907 gr 2,4-DPH eklenerek hazırlandı
- %20'lik TCA; 100 ml distile suya 20 gr TCA eklenerek hazırlandı.
- Etanol-Etil Asetat (1/1); 150 ml etanol ile 150 ml etil asetat karıştırıldı.
- 100 mM NaOH; 100 ml'ye 0,4 gr NaOH eklenerek hazırlandı.

1,5 ml'lik ependorff tüplere 0,5 ml numune ve 0,5 ml TCA (%20) konularak vortekslendi. Bunlar daha sonra, 11000 devirde 10 dk santrifüj edildi ve elde edilen süpernatant dikkatlice döküldü. Kalan tortunun üstüne, 2 M HCl içinde 10 mM 2,4-DPH'dan 0,5 ml ilave edildi ve tekrar iyice vortekslendi. Oda ısısında her 10–15 dk'da bir vortekslenerek bir saat bekletildi. Üstüne 0,5 ml %20 TCA ilave edilerek vortekslendi ve 1000 devirde 3 dk santrifüj edilip süpernatant yeniden döküldü. Kalan pellet üstüne (3 defa tekrarlanmak üzere) 1 ml etanol-etil asetat karışımı eklendi ve vortekslenip 10 dk beklendi. Ardından, 11000 devirde 3 dk santrifüj edilip elde edilen süpernatant döküldü, altaki pellet yine korundu. Bu tortunun üzerine 0,6 ml 100 mM NaOH eklendi ve 15 dk 37°C'de çalkalayıcıda çözüldü. Ardından, 11000 devirde 5 dk santrifüj ile çözünmeyenler çöktürüldü. Üsteki kısımlardan alınan süpernatantlar Elisa kuyucuklarına 250 µl olarak pipetlenerek Elisa okuyucuda 360 nm dalga boyunda okundu ve karbonile protein miktarı (PCO) hesaplandı.

3.3.5. Total süperoksit dismutaz aktivitesi

Süperoksit dismutaz aktivitesi, Sun ve ark. tarafından tanımlanan yöntemle ölçüldü⁽⁹⁶⁾. Bu yöntem, spektrofotometride 560 nm’de mavi renkli formazon oluşumunun belirlenmesi ilkesine dayanır. Bunun için ilk önce 0,3 mmol/L ksantin, 0,6 mmol/L EDTA, 150 µmol/L NBT, 400 mmol/L Na₂CO₃ ve 1gr/L bovine serum albumin (BSA) karışımından oluşan ölçüm reaktifi hazırlandı ve koyu renkli cam bir şişe içinde kullanılmak üzere depolandı.

Daha sonra ise, 0,8 mmol/L CuCl₂, 2M (NH₄)₂SO₄ (Amonyum sülfat) ve amonyum sülfat içinde 167 U/L ksantin oksidaz (XO) hazırlandı. Son olarak, homojenatlar 3220 devirde +6°C’de 30 dk santrifüj edilerek süpernatları elde edildi. Süpernatlar ile kloroform-etanol solüsyonu cam tüplerde 1/1 oranında karıştırılarak vortekslendi ve 3220 devirde +4°C’de 40 dk santrifüj edilerek, elde edilen etanol fazından cam tüpler içine 50’şer µl konuldu. Bunların üzerine yine 1425 µl ölçüm reaktifi ve 25 µl 167 U/L XO ilave edildi. Kör tüpüne ise etanol fazı yerine distile su ilave edilerek, 25°C’de 20 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonunda her bir numuneden 200 µl Elisa kuyucuklarına alınarak üzerlerine 100 µl 0,08 mM/L CuCl₂ eklenerek reaksiyon durduruldu ve distile suya karşı absorbans sıfırlanarak kördan başlanarak numuneler 560 nm’de okundu. Bulunan absorbans değerleri aşağıdaki formüle konarak SOD aktivitesi hesaplandı:

$$[(K-N) / N] \times D \times 20 / E = U/gr-protein$$

Bu formülde: K; körün absorbansı, N; numune absorbansı, D; dilüsyon miktarı, E; ekstrakt protein miktarı (gr/ml)

3.3.6. GSH-Px aktivitesi

GSH-Px enziminin aktivitesi, Paglia ve Valentine'nin tarif ettiği yöntem ile hesaplanmıştır.⁽⁹⁷⁾ GSH-Px tamponu (pH:7'lik, 50 mM fosfat tamponu + 5 mM EDTA'lı), 3,2 M (NH₄)₂SO₄ (Amonyum Sülfat), 150 mM redükte glutatyon (GSH), 8 mM redükte NADPH, 1 M NaN₃ (Sodyum Azid), GSH-Redüktaz enzimi ve 2 mM H₂O₂ kullanıldı.

Her numune için, cam tüplere aşağıdaki miktarlarda olmak üzere, dokulardan elde edilen süpernatant ve kimyasal madde konularak 30 dk oda ısısında inkübe edildi:

Kullanılan Reaktif	Miktar (ml)
Fosfat tamponu (pH:7'lik, 50 mM) 5 mM EDTA'lı	2,65
150 mM redükte GSH	0,10
8 mM NADPH	0,10
GSH-Redüktaz	0,01
1 M NaN ₃	0,01
Numune (süpernatant)	0,02

30 dk oda ısısında inkübasyon sonunda her bir cam tüpteki numuneler 290 µl olmak üzere Elisa kuyucuklarına pipetlenerek, üzerlerine 10 µl 2 mM H₂O₂ ilave edildi ve dalga boyu 340 nm'ye ayarlanmış Elisa okuyucuda numunelerin absorbans değerleri 5 dk boyunca kaydedildi. Lineer aktivite azalışının olduğu absorbans aralığının 1 dk'lık süresi esas alınarak hesap yapıldı. Değerler U/gr-protein olarak ifade edildi.

3.3.7. Doku TNF- α ve IL-1 β düzeyleri

Doku proinflatuar sitokin (TNF- α , IL-1 β) düzeyleri üreticinin talimatlarına göre ticari kitleri kullanılarak elisa (ELISA) ile değerlendirildi. (Biosource, Camarillo, CA, USA for cytokines).

3.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 17,0 bilgisayar programında aşağıda sıralanan testler kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel analiz verileri [ortalama $\pm$ standart sapma, (En az-En çok) olarak sunuldu. Yapılan tüm istatistiksel analizlerde anlamlılık sınırı olarak $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Ölçülebilen parametrelere Shapiro-Wilk testi uygulanarak dağılımın normal ya da anormal olup olmadığı belirlendi. Normal dağılım gösterenler için gruplar arasında fark olup olmadığını belirlemede bağımsız gruplarda tek yönlü ANOVA testi ile değerlendirildi. Farklılık olması durumunda gruplar arası Bonferroni testi ile karşılaştırılma yapıldı.

Kalp atım hızı (KAH), SAB, DAB, OAB verilerde; gruplar içerisinde tekrarlayan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişimin meydana gelip gelmediği, Tekrarlı Ölçümler Varyans analizi ile araştırıldı. Tekrarlı Ölçümler Varyans analizi istatistiği sonucunun önemli bulunduğu durumlarda söz konusu farka neden olan ölçüm zamanını tespit etmek amacıyla Bonferroni Düzeltmeli karşılaştırma testi kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen ratların vücut ağırlığı (gr) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). (Tablo 7).

Tablo 7: Ratların ağırlık verileri [Ort $\pm$ SS (En az-En çok)]

	Grup I/R (n=6)	Grup I/R-K (n=6)	Grup I/R-D (n=6)	P**
Ağırlık (gr)	297,33 $\pm$ 16,23 (276-317)	293,50 $\pm$ 15,42 (278-315)	312,83 $\pm$ 22,13 (278-334)	0,183

Cerrahiden 10 dk önce kalp atım hızı (KAH) ortalama değerleri karşılaştırıldığında, gruplar arası fark saptanmadı (Tablo 8).

LAD oklüzyonundan 20 dk sonra KAH ortalama değerleri karşılaştırıldığında; Grup I/R-D'de, Grup I/R ve I/R-K'ya göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0,006$, $p<0,0001$, sırasıyla). Reperfüzyondan 20 dk sonraki ölçümde ise; Grup I/R-D'de, Grup I/R-K'ya göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0,001$) (Tablo 8).

Grup içi karşılaştırmalarda cerrahiden 10 dk önceki KAH değeri ile karşılaştırıldığında; tüm gruplarda LAD oklüzyonundan sonra 20. dk ve reperfüzyondan sonra 20. dk'da KAH ortalama değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu saptandı (Tablo 8).

Tablo 8: Grupların LAD iskemi/reperfüzyon sırasında kalp atım hızı (KAH) değerleri [Ort ± SS, (En az-En çok)].

	Grup I/R (n=6)	Grup I/R-K (n=6)	Grup I/R-D (n=6)	P**
Cerrahiden 10 dk önce (atım/dk)	284,67±13,02 (267-305)	282,17±16,67 (265-305)	287,17±11,04 (271-300)	0,823
LAD oklüzyonundan 20 dk sonra (atım/dk)	117,33±7,91+ (107-126)	127,50±11,33+ (110-139)	91,83±15,42*,&,+ (73-115)	<0,0001
Reperfüzyondan 20 dk sonra (atım/dk)	127,50±7,09+ (115-135)	140,17±12,04+ (125-157)	113,67±10,80&,+ (97-129)	0,002

P**: ANOVA testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

* $p < 0.05$: Grup I/R ile karşılaştırıldığında

& $p < 0.05$: Grup I/R-K ile karşılaştırıldığında

+ $p < 0.05$: Cerrahiden 10 dk önceki değeri ile karşılaştırıldığında

Cerrahiden 10 dk önce SAB ortalama değerleri karşılaştırıldığında, gruplar arası fark saptanmadı (Tablo 9).

LAD oklüzyonundan 20 dk sonra SAB ortalama değerleri karşılaştırıldığında; Grup I/R-D’de, Grup I/R ve I/R-K’ya göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0,011$, $p<0,0001$, sırasıyla). Reperfüzyondan 20 dk sonraki ölçümde ise; Grup I/R-D’de, Grup I/R-K’ya göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p<0,0001$). Ayrıca Grup I/R-K’da Grup I/R’ye göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0,003$) (Tablo 9).

Grup içi karşılaştırmalarda cerrahiden 10 dk önceki SAB değeri ile karşılaştırıldığında; tüm gruplarda LAD oklüzyonundan sonra 20. dk ve reperfüzyondan sonra 20. dk SAB ortalama değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu saptandı (Tablo 9).

Tablo 9: Grupların LAD iskemi/reperfüzyon sırasında sistolik arter basıncı (SAB) değerleri [Ort ± SS, (En az-En çok)].

	Grup IR (n=6)	Grup IR-K (n=6)	Grup IR-D (n=6)	P**
Cerrahiden 10 dk önce (mm Hg)	109,83±5,35 (103-117)	109,17±7,68 (99-119)	106,00±4,43 (100-111)	0,510
LAD oklüzyonundan 20 dk sonra (mm Hg)	83,00±6,63+ (72-90)	90,50±7,61+ (80-100)	70,33±4,68*,&,+ (65-78)	<0,0001
Reperfüzyondan 20 dk sonra (mm Hg)	88,50±5,09+ (80-95)	101,50±6,38*,+ (94-110)	81,50±5,05&,+ (75-87)	<0,0001

P**: ANOVA testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

* $p < 0.05$: Grup IR ile karşılaştırıldığında

& $p < 0.05$: Grup IR-K ile karşılaştırıldığında

+ $p < 0.05$: Cerrahiden 10 dk önceki değeri ile karşılaştırıldığında

Cerrahiden 10 dk önceki DAB ortalama değerleri karşılaştırıldığında, gruplar arası fark saptanmadı (Tablo 10).

LAD oklüzyonundan 20 dk sonra DAB ortalama değerleri karşılaştırıldığında; Grup I/R-D’de, Grup I/R ve I/R-K’ya göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0,005$, $p=0,001$, sırasıyla). Reperfüzyondan 20 dk sonraki ölçümde ise; Grup I/R-D’de, Grup I/R-K’ya göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0,001$). Ayrıca Grup I/R-K’da Grup I/R’ye göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0,027$) (Tablo 10).

Grup içi karşılaştırmalarda cerrahiden 10 dk önceki DAB değeri ile karşılaştırıldığında; Grup I/R ve I/R-D’de LAD oklüzyonundan sonra 20. dk ve reperfüzyondan sonra 20. dk DAB ortalama değerlerinin istatistiksel olarak

anlamli düşük olduğu saptandı. Grup I/R-K’da ise sadece LAD oklüzyonundan sonra 20. dk ölçüm değeri düşük bulundu (Tablo 10).

Tablo 10: Grupların LAD iskemi/reperfüzyon sırasında diyastolik arter basıncı (DAB) değeri [Ort ± SS, (En az-En çok)].

	Grup IR (n=6)	Grup IR-K (n=6)	Grup IR-D (n=6)	p**
Cerrahiden 10 dk önce (mm Hg)	73,33±6,53 (65-82)	79,33±7,94 (68-88)	73,67±7,71 (62-82)	0,318
LAD oklüzyonundan 20 dk sonra (mm Hg)	61,00±3,69+ (58-67)	63,83±6,59+ (56-71)	48,33±5,74*,&,+ (42-58)	0,001
Reperfüzyondan 20 dk sonra (mm Hg)	63,50±4,14+ (58-68)	72,00±3,41* (68-76)	59,17±6,58&,+ (50-68)	0,001

P**: ANOVA testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

* $p < 0.05$: Grup I/R ile karşılaştırıldığında

& $p < 0.05$: Grup I/R-K ile karşılaştırıldığında

+ $p < 0.05$: Cerrahiden 10 dk önceki değeri ile karşılaştırıldığında

Cerrahiden 10 dk önce ve LAD oklüzyonundan 20 dk sonra OAB ortalama değeri karşılaştırıldığında, gruplar arası fark saptanmadı (Tablo 11).

Reperfüzyondan 20 dk sonraki ölçümde ise; Grup I/R-D’de, Grup I/R-K’ya göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p < 0,0001$). Ayrıca Grup I/R-K’da Grup I/R’ye göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p = 0,007$) (Tablo 11).

Grup içi karşıştırmalarda cerrahiden 10 dk önceki OAB değeri ile karşılaştırıldığında; Grup I/R ve I/R-D’de LAD oklüzyonundan sonra 20. dk ve reperfüzyondan sonra 20. dk OAB ortalama değerlerinin istatistiksel olarak

anlamli düşük olduğu saptandı. Grup I/R-K'da ise sadece LAD oklüzyonundan sonra 20. dk ölçüm değeri düşük bulundu (Tablo 11).

Tablo 11: Grupların LAD iskemi/reperfüzyon sırasında ortalama arter basıncı (OAB) değeri [Ort ± SS, (En az-En çok)].

	Grup IR (n=6)	Grup IR-K (n=6)	Grup IR-D (n=6)	P**
Cerrahiden 10 dk önce (mm Hg)	83,83±8,42 (69-93)	89,00±7,85 (78-97)	84,50±6,53 (75-92)	0,463
LAD oklüzyonundan 20 dk sonra (mm Hg)	68,33±4,28+ (63-74)	72,83±6,59 + (64-81)	61,33±12,74+ (50-85)	0,100
Reperfüzyondan 20 dk sonra (mm Hg)	71,50±4,32+ (65-77)	81,67±3,93* (77-87)	66,67±6,06&,+ (58-74)	<0,0001

P**: ANOVA testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

* $p < 0.05$: Grup I/R ile karşılaştırıldığında

& $p < 0.05$: Grup I/R-K ile karşılaştırıldığında

+ $p < 0.05$: Cerrahiden 10 dk önceki değeri ile karşılaştırıldığında

Gruplar kalp dokusundaki MDA seviyeleri açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p < 0,0001$). MDA seviyesi I/R grubunda I/R-K ve I/R-D gruplarına göre anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,0001$, $p < 0,0001$, sırasıyla). I/R-K ve I/R-D grupları kendi arasında kıyaslandığında ise MDA seviyeleri benzer bulundu. (Tablo 12).

Gruplar kalp dokusu SOD enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p = 0,029$). SOD enzim aktivitesi I/R grubunda I/R-K grubuna göre anlamlı yüksek tespit edildi

(p=0,013). I/R-K ve I/R-D grupları kendi arasında kıyaslandığında ise SOD enzim aktivitesi açısından benzer bulundu (Tablo 12).

Gruplar kalp dokusu GSH-Px enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı (p<0,0001). GSH-Px enzim aktivitesi I/R grubunda I/R-K ve I/R-D gruplarına göre anlamlı yüksek bulundu (p=0,001, p=0,001, sırasıyla). I/R-K ve I/R-D grupları kendi arasında kıyaslandığında GSH-Px enzim aktivitesi açısından benzer bulundu (Tablo 12).

Tablo 12: Sıçanların kalp dokusunda oksidan durum parametreleri [Ort ± SS (En az-En çok)]

	Grup IR (n=6)	Grup IR-K (n=6)	Grup IR-D (n=6)	P**
MDA (mmol/gr protein)	0,87±0,09 (0,72-0,95)	0,44±0,05* (0,40-0,54)	0,40±0,12* (0,27-0,55)	<0,0001
SOD (U/gr protein)	599,89±183,66 (407,84-817,78)	400,83±54,42* (317,49-455,26)	432,73±92,97 (331,70-583,03)	0,0298
GSH-Px (U/gr protein)	64,55±11,57 (48,39-80,69)	40,85±6,77* (32,76-49,19)	41,88±5,28* (36,51-48,29)	<0,0001

P**: ANOVA testi ile anlamlılık düzeyi p< 0.05

*p<0.05: Grup I/R ile karşılaştırıldığında

Gruplar kalp dokusu IL-1 β aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında benzer bulundu (p=0,209), (Tablo 13).

Gruplar kalp dokusu TNF- α enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı (p=0,002). TNF- α enzim aktivitesi I/R grubunda I/R-K ve I/R-D gruplarına göre anlamlı yüksek bulundu

(p=0,025, p=0,002, sırasıyla). I/R-K ve I/R-D grupları kendi arasında kıyaslandığında ise TNF- α enzim aktivitesi açısından benzer bulundu (Tablo 13).

Tablo 13. Sıçanların kalp dokusunda IL-1 β ve TNF- α verileri [Ort $\pm$ SS (En az-En çok)]

	Grup IR (n=6)	Grup IR-K (n=6)	Grup IR-D (n=6)	P**
IL-1β (ng/mg protein)	16,19 $\pm$ 7,24 (9,34-30,01)	12,77 $\pm$ 5,17 (5,60-21,62)	10,22 $\pm$ 3,67 (5,84-16,12)	0,209
TNF-α (ng/mg protein)	17,84 $\pm$ 3,44 (14,24-24,28)	12,83 $\pm$ 2,38* (10,09-17,05)	10,73 $\pm$ 2,65* (7,28-14,55)	0,002

P**: ANOVA testi ile anlamlılık düzeyi p< 0.05

*p<0.05: Grup I/R ile karşılaştırıldığında

5. TARTIŞMA

Hücrelerin sağlıklı bir yaşam sürdürebilmesi için pro-oksidan ve antioksidan savunma mekanizmalarının dengeli bir şekilde çalışması gerekir. Fizyolojik koşullarda; miyokardiyal oksidan ve antioksidan denge, hücrelerde herhangi bir ciddi hasar gelişmeden çalışmaktadır. Herhangi bir sebeple iskemi (MI, perkütan koroner girişim sonrası, kardiyak cerrahi sırasında) ve ardından reperfüzyon olduğunda genelde iskeminin süresine bağlı olarak antioksidan savunma mekanizmaları yetersiz kalır ve hücrelerde artan SOR'lar çeşitli derecelerde hasar meydana getirir.⁽⁹⁸⁾ Genellikle miyokard hücreleri reperfüzyon sırasında, iskeminin oluşturduğu hasara yakın, bazen de daha fazla hasar görmektedirler. Kardiyak cerrahide iskemik süre, yapılan operasyonun çeşidine göre değişmekle birlikte genellikle azaltılamadığından yapılan çalışmalar reperfüzyon sırasında oluşan hasarı azaltmada yoğunlaşmıştır. Yaklaşık 60 yıldır I/R hasarının sonuçları ve korunma yöntemleri birçok araştırmacı tarafından daha detaylı çalışılmış ve günümüzde bu çalışmalar yoğunlaşarak devam etmektedir. Reperfüzyon sırasında, etkilenen alandaki hasarın yanında, sebebini tam olarak bilmediğimiz mekanizmalarla uzak organlarda ciddi hasarlar meydana gelmektedir. Bu organlardan akciğer, karaciğer, böbrek daha çok etkilenmektedir. Uzak organlardan en çok etkilenen akciğerlerdir ve bu durum ameliyat sonrası dönemde önemli mortalite ve morbiditeye neden olmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin reperfüzyon hasarından büyük oranda sorumlu olmaları nedeniyle iskemik alanda bu moleküllerin azaltılmasıyla oluşacak olan doku hasarı da azaltılabilir

İskemi/reperfüzyon hasarı; prognozu, cerrahi başarıyı ve hastaların yaşam süresini etkileyen majör faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. Bu hasarın olumsuz sonuçlarını azaltmak amacıyla yeni ilaçların ve tekniklerin geliştirilmesi son derecede önemlidir. Günümüzde kalp cerrahisinde genellikle kalp/akciğer pompası kullanılarak istemli miyokardiyal iskemi ve ardından reperfüzyon uygulanması, bu çalışmaların kalbe daha fazla odaklanmasına neden olmuştur. Miyokardiyal koruma alanında çok önemli gelişmeler olmasına rağmen, reperfüzyon sırasında kullanılacak ideal ilaç, teknik, solüsyon veya metod henüz net olarak tanımlanmamıştır. Bu durum, I/R hasarının mekanizmasının tam açıklanamaması ve fizyopatolojisindeki karmaşıklık ile açıklanmaktadır. Bu çalışmalarda temel odaklanılan alan, hücrelerin hasarlanmasının patogenezindeki serbest oksijen radikallerinin üretiminin inhibisyonu, antioksidan mekanizmaların rolünün belirlenmesi ve antioksidan serbest radikal yakalayıcı tedavi denemeleridir⁽²⁸⁾. Olayların patogenezindeki mekanizmaların kısmi açıklanması, I/R hasarından korunmak için birçok ilacı gündeme getirmiştir. Bunlar, vitaminler, ACE inhibitörleri, NO-donörleri, adenozin, $\text{Na}^+\text{-H}^+$ değiştirici inhibitörleri, glutamat, aspartat, aprotinin, metilprednisolon, Ca^{++} kanal blokerleri, ATP duyarlı K^+ kanal açıcıları, glukoz-insülin- K^+ solüsyonları, prostoglandinler, glutatyon, N-asetilsistein, pentoksifilin, C_1 esteraz inhibitörü, Endotelin-1 reseptör antagonisti ve anestezik ajanlardır. Anestezik ajanlardan ketamin ve deksmedetomidinin kardiyak I/R hasarı üzerine olan etkisi ile ilgili çalışmalar kısıtlıdır. Literatür taramasında, deksmedetomidin ve ketaminin miyokardiyal I/R hasarı üzerine olan etkilerinin karşılaştırıldığı deneysel

çalışmaya rastlanmadı. Yapılan deneysel çalışma ile bu konuya katkı sağlanması amaçlandı.

Modelimiz, miyokardın dominant perfüzyonunu sağlayan LAD arterinin oklüde edilmesi, sonra oklüzyon açılarak reperfüzyon sağlanması, bu esnada ilaçları uygulayarak bu ilaçların deneklerde oluşturduğu hemodinamik ve biyokimyasal değişikliklerin tespit edilmesi üzerine kuruludur.

Çalışmamızda cerrahiden 10 dk önce, ketamin veya deksmedetomidin uygulanmadığı, aynı anestezi ve cerrahi tekniği kullanıldığı için bütün olgularda, kalp atım hızları ve arteriyel basınçların ortalama değerleri arasında fark saptanmadı. LAD oklüzyonundan 20 dk sonra ise KAH, SAB ve DAB'ın ortalama değerleri karşılaştırıldığında I/R-D grubunda istatistiksel olarak anlamlı, daha düşük değerler elde edildi. Reperfüzyondan 20 dk sonra ise I/R-D grubunda, I/R-K grubuna göre KAH, SAB, OAB, DAB'ın ortalama değerleri anlamlı olarak daha düşük bulundu. Bu sonuçlar, deksmedetomidinin KAH ve OAB'yi azalttığı için kontrollü hipotansiyonda faydalı bir ajan olmasını, refleks taşikardiye yol açmamasını ve sempatik sistem yanıtını bloke etmesini destekler niteliktedir.⁽⁶⁶⁾ Aynı zamanda, ketaminin kardiyovasküler sistem üzerine uyarıcı etkisi olan tek intravenöz anestezi olması, arteriyel kan basıncı ve kalp atım hızı %30 artırmasını destekler nitelikte, I/R-K grubunda ise I/R grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Tüm gruplarda ise, KAH, SAB ve DAB değerlerinin ortalamaları, LAD oklüzyonundan 20 dk sonra ve reperfüzyondan 20 dk sonraki değerleri, cerrahiden 10 dk önceye göre daha düşük bulundu. Bunun temel nedeninin LAD oklüzyonu sonucu oluşan iskemiden dolayı miyokardın enerji ve

oksijen ihtiyacının karşılanamaması olduğu ve miyokardiyal depresyona bağlı KAH ve arteriyel basınçların düşük seyrettiği düşünüldü.

Ketamin, kardiyovasküler sistem üzerine uyarıcı etkisi olan tek intravenöz anesteziktir. Arteriyel kan basıncı ve kalp atım hızı %30 artar, bu artış 20-30 dk içinde normale döner. Sloan ve ark.⁽⁹⁹⁾ kobaylar üzerinde yaptıkları çalışmada, izole kalpte 20 dk iskemi iki saat reperfüzyon sonrası ölçülen enfarkt alanının yüksek doz (Ketamin: 200 mg/kg, Xylazin: 60 mg/kg) ketamin uygulanan grupta, düşük doz (Ketamin: 85 mg/kg, Xylazin: 15 mg/kg) ketamin uygulanan gruba göre önemli derecede daha az olduğunu, her iki gruptaki hemodinamik parametrelerin benzer olduğunu ve EKG ritimlerinde ise değişiklik izlenmediğini belirtmişlerdir. Regueiro ve ark.⁽¹⁰⁰⁾ ise ketamin (5 mg/kg IM), midazolam (0.35 mg/kg IM), atropin (0.02 mg/kg IM) premedikasyonu uyguladıkları domuzlara propofol (4 mg/kg IV) indüksiyonu sonrası 1 MAC isofluran veya sevofluran anestezisi altında anjiyoplasti ile LAD oklüzyonu uygulamışlar, 75 dk'lık LAD oklüzyonundan iki ay sonra sakrifiye edilen domuzlarda, sevofluran grubunda daha iyi hemodinamik stabilite, daha az toplam mortalite ve daha az ventriküler aritmi saptamışlardır. Müllenheim ve ark.⁽¹⁰¹⁾ enfarkt alanı ve kardiyak outputu değerlendirdiği çalışmalarında, ketamin enantiyomeri olan S(+) ketaminin kalpte iskemik önkoşullamanın koruyucu etkisini potansiyelize ettiğini bildirmişlerdir.

Deksmedetomidin ile yapılan değişik çalışmalarda, hem IM hem de IV uygulamalarında nadiren de olsa bradikardi ve sinüs arresti oluşturabileceği gösterilmiştir. Hayvan modellerinde deksmedetomidinin iskemik kalpte oksijen tüketimini azalttığı, akut oklüzyonda kan akımını noniskemik zondan iskemik

zona yönlendirdiği gösterilmiştir.⁽⁷⁷⁾ Benzer şekilde koroner iskemi oluşturulan köpekler üzerinde yapılan bir çalışmada, deksmedetomidin kullanımı ile serum laktat düzeyi, kalp hızı ve katekolamin düzeyinde azalma, endokardiyal-epikardiyal kan akım oranında %35 artma olduğu gösterilmiştir.⁽¹⁰²⁾ Revaskülarizasyon sırasında esmolol tedavisine yanıt vermeyen intraoperatif taşikardi durumunda deksmedetomidin ile kalp atım sayısının azaltılabildiği belirtilmiştir.⁽¹⁰³⁾ Yapılan çalışmalarda, deksmedetomidinin, santral adrenerjik salınımı azaltarak ketaminin kardiyostimulan etkilerini ortadan kaldırdığı ve plazma katekolamin seviyelerini azaltarak cerrahiye stres yanıtı baskıladığı belirtilmiştir.^(104,105) Aynı zamanda deksmedetomidinin güçlü anestezik ve analjezik özelliklere sahip olduğunu gösterilmiştir.^(106,107)

Miyokardiyal I/R çalışmalarında, reperfüzyon sırasında miyokard hücrelerinde SOR'un önemli derecede arttığı gösterilmiştir. Hücrede artan bu SOR'nin en önemli hedef yapılarından biri de lipidlerdir. Lipid peroksidasyonu bazı araştırmacılar tarafından I/R hasarında anahtar olarak kabul edilmektedir.⁽¹⁰⁸⁾ Serbest oksijen radikalleri çoklu doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen atomu olarak lipid peroksidasyonunu başlatır ve sonuçta hidroperoksitler oluşur. Bu reaksiyonlar sonucunda hücre membranı akışkanlığını yitirir ve membran bütünlüğü bozulur. Bu durum hücre fraksiyonlarının çevreye salıverilmesine ve hücre ölümüne yol açar. Diğer taraftan çevreye salıverilen bu subsellüler yapılar inflamatuvar olayları tetikler ve hasarı daha da kötüleştirir.⁽¹⁰⁹⁾ Dokuda lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak farklı metodlar kullanılmaktadır. Bu metodlarda en çok kullanılan belirteçlerden biri MDA seviyesi tayinidir.⁽¹¹⁰⁾

Dokuda MDA seviyesinin yüksekliği, lipid peroksidasyonunun yüksek olduğunun direkt göstergesidir. Yani I/R hasarının azaltılabileceği hipotezinde kullanılan en önemli belirteç MDA'dır. Çalışmamızda MDA düzeyleri I/R grubunda I/R-K ve I/R-D gruplarına göre anlamlı derecede yüksek bulundu. I/R-K ve I/R-D grupları ise kendi aralarında kıyaslandığında MDA düzeyleri benzer bulundu. Bu sonuç ketamin ve deksmedetomidinin I/R hasarını azaltmada etkili oldukları yönünde değerlendirildi.

Salman ve ark.⁽¹¹¹⁾ ratlarda yaptıkları çalışmada, 1 mg/kg/dk'dan ketamin infüzyonu ile I/R sonrasında, ketaminin plazmadaki MDA seviyelerini düşürdüğünü bulmuşlar ve bunu sonucu ketaminin rat kas dokusunda akut I/R hasarını yani kas dokusundaki lipid peroksidasyonunu azaltabileceğini belirtmişlerdir. Öksüz ve ark.⁽¹¹²⁾ IP uyguladıkları propofol ve ketaminin kardiyoprotektif etkilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, MDA seviyelerinin her iki grupta da kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu, propofol grubunda ketamin grubundan önemli derecede daha düşük olduğunu ve bu global kardiyak iskemi modelinde, propofolün ketamine göre miyokardiyal hasarı daha çok hafiflettiğini belirtmişlerdir. Bizim ketamin sonuçlarımız diğer benzer çalışmaların sonuçları ile uyumluluk arz etmektedir.

İskemi/reperfüzyon hasarının azaltılabileceği hipotezinde kullanılan belirteçlerden birisi de GSH-Px'dir. Glutasyon, superoksit anyonlarına karşı doğal bir temizleyicilik görevi üstlenir ve oksidasyona karşı hücre bütünlüğünü sağlamaya çalışır. Endojen ve ekzojen kaynaklı toksik ürünlere karşı hücre içerisinde önemli bir savunma mekanizmasından sorumludur. Solunum patlaması

sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Glutasyon peroksidaz aktivitesinde azalma hidrojen peroksitin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar.⁽¹¹³⁾ Aktivitesindeki artma ise hidrojen peroksit temizleme faaliyetinin arttığının bir göstergesidir. Yani SOR'a bağlı hücre membran hasarı oluşma olasılığında azalma var demektir. Çalışmamızda GSH-Px seviyelerini I/R grubunda I/R-K ve I/R-D grubuna göre anlamlı yüksek bulundu. I/R-K ve I/R -D grupları kendi aralarında kıyaslandığında ise benzer sonuçlar elde edildi. Bu sonuç bize ketamin ve deksmedetomidinin oksidatif stresi azalttığı ve bu nedenle glutasyon peroksidaz aktivitesinde kontrol grubu kadar bir artma olmadığını göstermektedir.

İskemi/reperfüzyon hasarının azaltılabileceği hipotezinde kullanılan belirteçlerden bir diğeri SOD'dur. SOD, serbest oksijen radikallerinin H₂O₂ ve moleküler oksijene dönüşmesini katalize eden bir enzim olup, aerobik tüm hücrelerde bulunur. Hücrelerdeki oksidatif stresin arttığı durumlarda SOD enzim aktivitesi artar. Oksijen toksisitesine karşı organizmadaki ilk savunma sistemidir.⁽¹¹⁴⁾ Bu enzim aktivitesindeki artış ortamda fazla miktarda SOR bulunduğunu ve kuvvetli temizleme faaliyeti yapıldığını gösterir. Çalışmamızda, SOD düzeyleri, I/R-K ve I/R-D grubunda I/R grubuna göre anlamlı düşük bulundu. I/R-K ve I/R-D grubu kendi aralarında kıyaslandığında ise benzer bulundu. Yani ketamin ve deksmedetomidin ortamdaki oksidatif stresi azaltmıştır dolayısıyla SOD enzim aktivitesinde o kadar az artış olmuştur.

Bir diğer I/R hasarı belirteci olan TNF- α , makrofajlardan salınan bir sitokindir. Sitotoksik etkisi yanında, inflamatuvar reaksiyon ve inflamasyonun

regülasyonunda önemli role sahiptir. Doku makrofajları inflamasyonda ve travmalarda aktive olduklarında serbest oksijen radikalleri, lizozomal enzimler, miyeloperoksidaz, TNF- α , IL-2 ve IL-6 gibi sitokinler salgırlar.^(115,116) Polipeptit yapıdaki sitokinlerden IL-1 ve TNF- α ; doku hasarı, septik şok, hipermetabolizma, akut faz cevabı ve proliferasyon-apoptoz kaskadının mediyatörleridir. IL-1, inflamatuvar cevabın tüm basamaklarında, genellikle TNF- α ile birlikte proinflamatuvar rol oynar ve multiorgan yetmezliğine sebep olabilir.^(117,118) Pro-inflamatuvar sitokin etkilerine ve reseptörlerine yönelik yapılmış birçok çalışmaya rağmen yapıları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.^(119,120) CABG sırasında açığa çıkan TNF- α , IL-2 ve IL-6, kardiyak miyositlerin adrenerejik yanıt yeteneğini inhibe etmeleri nedeniyle negatif inotropik özelliğe sahiptirler.⁽¹⁵²¹⁾ Çalışmamızda IL-1 β sonuçlarında gruplar arasında anlamlı fark yoktu ancak TNF- α seviyeleri I/R-D ve I/R-K grubunda, I/R grubuna göre anlamlı düşük bulundu. I/R-D ve I/R-K gruplarını TNF- α seviyeleri arasında kıyaslandığında ise her iki grup benzer bulundu. Bu da, reperfüzyon hasarında tetikleyici rol oynayan nötrofil aktivasyonunun azaldığını, dolayısıyla bu aktivasyonla oluşabilecek yukarıda saydığımız birçok patolojik olayı durdurduğu ya da yavaşlattığının bir göstergesi olabilir.

Anestezik ajanların miyokardiyal I/R hasarına karşı kalbi korumadaki etkilerinin araştırıldığı çalışmalar incelenerek, Kato ve ark.⁽¹²³⁾ tarafından review olarak yayımlanmıştır.⁽¹²²⁾ Freedman tarafından yapılan çalışmada enfluranın postiskemik fonksiyonel iyileşmeyi geliştirdiği belirtilmiştir. Bu çalışmadan sonra, halojenli anesteziklerin, miyokardiyal I/R hasarına karşı koruyucu etkisi

çeşitli hayvan modelleri ile incelenmiş, halotan, izofluran ve sevofluranın benzer özelliklere sahip olduğuna dair kanıtlar bildirilmiştir.⁽¹²²⁾ Schultz ve ark.⁽¹²⁴⁾ I/R hasarını azaltmak için güçlü bir girişim olan iskemik önkoşullamanın opioid reseptörler aracılığıyla olduğunu saptamışlardır. Bu çalışma, eksojen morfinin kalbi enfarktüse karşı koruduğunun keşfedilmesine yol açmıştır. Propofolün serbest radikal temizleyici olduğu bilinmektedir ve I/R ye karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir.^(125,126) Murry ve ark.⁽¹²⁷⁾ tarafından köpekler üzerinde yapılan çalışmada sirkumflex arterin 40 dk'lık oklüzyonu öncesinde 5'er dk'lık dört oklüzyon döngüsünün enfarkt boyutunu %80 azalttığı gösterilmiş ve bu koruyucu etkiye iskemik önkoşullama (ischemic preconditioning) adı verilmiştir.

Riha ve ark.⁽¹²⁸⁾ nın yaptığı çalışmada ise deksmedetomidin (1 µg/kg bolus, 0,5-1,5 µg/kg/saat infüzyon), ketamin (1-2 mg/kg bolus 2-4 mg/kg/saat infüzyon) veya sevofluran (1,0-1,5 MAC end-tidal), sufentanil (0,5 µg/kg bolus, 0,4-0,8 µg/kg/saat infüzyon) anestezisi altında elektif CABG cerrahisi geçiren hastaların retrospektif olarak incelenmesi sonucu ketamin-deksmedetomidin anestezisinde Troponin-I ve CK-MB düzeylerinin önemli ölçüde daha düşük olduğu saptanmıştır ve bu çalışma ketamin-deksmedetomidin anestezisinin kardiyoprotektif özelliklerini gösteren ilk klinik çalışmadır. Bu çalışmada, deksmedetomidinin, santral adrenerjik salınımı azaltarak ketaminin kardiyostimulan etkilerini ortadan kaldırdığı saptanmıştır. Çalışmamızdaki bulgular, bu çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Ketamin ve deksmedetomidinin etkilerinin karşılaştırıldığı Engelhard ve ark.⁽¹²⁹⁾ yaptığı çalışmalarında, bir gruba IP 100 µg/kg deksmedetomidin, diğer

gruba ise IV 1 mg/kg/dk ketamin uygulamışlar, 30 dk iskemi, 240 dk reperfüzyon sonrası, proapoptotik (Bax and p53) ve antiapoptotik (Bcl-2 and Mdm-2) proteinlere bakarak, serebral I/R'nin başlamasından dört saat sonra apoptozisin indüklendiğini ve bu etkinin dexmedetomidin ve ketamin ile azaltılabildiğini göstermişlerdir. Hemorajik şokun çalışıldığı bir başka araştırmada propofol (10 mg/kg/saat) -remifentanil (1 µg/kg/dk) kombinasyonu ile karşılaştırıldığında ketamin (5 mg/kg/saat) -medetomidin ((10 µg/kg/saat) kombinasyonunun, OAB'nin daha yüksek ve KAH'nin daha düşük seyretmesi nedeniyle üstün hemodinamik kontrol sağladığı ve daha büyük hacimde kan kaybına neden olduğu öne sürülmüştür. Ketamin-medetomidin kombinasyonunun büyük olasılıkla daha elverişli bir alternatif olduğu vurgulanmıştır.⁽¹³⁰⁾ Kardiyovasküler cerrahide peroperatif klonidin, deksmedetomidin veya mivazerol uygulanarak mortalite, miyokardiyal enfarkt oranı, iskemi veya supraventriküler taşikardi değerlendirilmiştir. α-2 adrenerjik agonistlerin mortalite, iskemi ve miyokardiyal enfarkt oranını azalttığı vurgulanmıştır.⁽¹³¹⁾

Bu deneysel çalışmada deksmedetomidin ve ketaminin miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarını azaltıcı etkilerinin benzer olduğunu gösteren bulgulara erişilmiştir. Ayrıca deksmedetomidinin daha iyi kalp hızı kontrolü sağladığı ancak aynı zamanda hipotansiyona neden olduğu, dolayısıyla kardiyak depresif etkisi nedeniyle klinik kullanımında dikkatli olunması gerektiği kanısına varılmıştır. Çalışmamızdan elde edilen bulgularımızın daha geniş seriler içeren deneysel çalışmalar ile güçlendirilmesi, klinik çalışmalar ile desteklenmesi ile klinik uygulamalara yön verebilecek sonuçlara ulaşılabileceği kanaatindeyiz.

6. SONUÇ

Bu deneysel çalışmanın sonucunda;

1. Cerrahiden 10 dk önce; bütün gruplarda kalp atım hızları ve arteriyel basınçların ortalama değerleri arasında fark saptanmadı.

2. LAD oklüzyonundan 20 dk sonra; KAH, SAB ve DAB'ın ortalama değerleri deksmedetomidin grubunda anlamlı olarak daha düşük bulundu.

3. Reperfüzyondan 20 dk sonra; deksmedetomidin grubunda, KAH, SAB, OAB, DAB'ın ortalama değerleri anlamlı olarak daha düşük bulundu.

4. MDA ve GSH-Px düzeyleri; kontrol grubunda ketamin ve deksmedetomidin gruplarına göre anlamlı yüksek bulundu. Ketamin ve deksmedetomidin grupları ise kendi aralarında kıyaslandığında MDA düzeyleri benzer bulundu.

5. SOD düzeyleri; ketamin ve deksmedetomidin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu. Ketamin ve deksmedetomidin grubu kendi aralarında kıyaslandığında ise benzer bulundu.

6. IL-1 β sonuçları gruplar kıyaslandığında benzer bulundu.

7. TNF- α seviyeleri; deksmedetomidin ve ketamin grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu. Deksmetomidin ve ketamin grupları ise kendi aralarında kıyaslandığında her iki grup benzer bulundu.

8. Deksmetomidin ve ketaminin miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarını azaltıcı etkilerinin benzer olduğunu gösteren bulgulara erişildi.

9. Dexmedetomidinin daha iyi kalp hızı kontrolü sağladığı ancak hipotansiyona neden olduğu, dolayısıyla kardiyak depresif etkisi nedeniyle klinik kullanımında dikkatli olunması gerektiği kanısına varıldı.

10. Bulguların daha geniş seriler içeren deneysel çalışmalar ile güçlendirilmesi, klinik çalışmalar ile desteklenmesi ile klinik uygulamalara yön verebilecek sonuçlara ulaşılabileceği kanaatine varıldı.

7. KAYNAKLAR

1. Taş, A. *Desfluran ve propofol anestezisinin rat hepatik iskemi reperfüzyon hasarı üzerindeki koruyucu etkilerinin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi, Kasım 2010.*
2. Duran E. *Kalp ve Damar Cerrahisi. 1. Baskı. Edirne: Ekim 2004; cilt 1, 197.*
3. Steenberger C, Hill ML, Jennings RB. Volume regulation and plasma membrane injury in aerobic, anearobic, and ischemic myocardium in vitro. *Circ Res* 1987;57: 864-75.
4. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr* 1990; 137:1-53.
5. Green CJ, Gower JD, Healing G, Cotterill LA, Fuller BJ, Simpkin S. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. *Free Radic Res Commun* 1989;7: 255-6.
6. Maxwell SRJ, Lip GYH. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int J Cardiol* 1997; 58: 95- 117.
7. Hearse DJ, Humphrey SM, Chain EB. Abrupt reoxygenation of the anoxic potassium-arrested perfused rat heart: a study of myocardial enzyme release. *J Mol Cell Cardiol* 1973;5: 395-407.
8. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994;81: 637-47.
9. Groot H, Rauwen U. Ischemia-Reperfusion Injury: Processes in Pathogenetic Networks: A Review. *Transplant Proc* 2007;39: 481-4.
10. Kuralay F, Çavdar Z. *İnflamatuvar mediyatörlere toplu bir bakış. Genel Tıp Dergisi* 2006;16: 143-152.

11. Hergenç G. *Kompleman Sisteminin Aterosklerozdaki Rolü. Arch Turk Soc Cardiol* 2004; 32: 28-37.
12. Arumugam TV, Shiels IA, Woodruff TM, Granger DN, Taylor SM. *The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury. Shock* 2004;21: 401-9.
13. Arumugam TV, Magnus T, Woodruff TM, Proctor LM, Shiels IA, Taylor SM. *Complement mediators in ischemia-reperfusion injury. Clin Chim Acta* 2006;374: 33-45.
14. Frank MM. *Complement and Kinin. In: Stites DP, Terr AI, Parslow TG (eds). Basic and Clinical Immunology. Beirut, Appleton and Lange. 1999; 124-33.*
15. Basaga HS. *Biochemical aspects of free radicals. Biochem Cell Biol* 1990;68: 989.
16. Cadenas E. *Mechanisms of antioxidant action. In: Tomris Özben, editor. Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidants. New York: Plenum Press 1998;237-251.*
17. Cheeseman KH, Slater TF. *An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull* 1993;49: 481-93.
18. Rangan U, Bulkley GB. *Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury. Br Med Bull* 1993;49: 700-18.
19. Erden M, Serbest radikaller. *T. Klinik Tıp Bilimleri Dergisi* 1992;12: 201-7
20. Li C, Jackson RM. *Reactive species mechanism of cellular hypoxia-reoxygenation injury. Am J Physiol Cell* 2002;282:C227-C241.

21. Hensley K, Robinson KA, Gabbita P, Salsman S, Floyd R, Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radical Biol Med* 2000;28: 1456-1462.
22. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN. Role of oxygen-derived free radicals in digestive tract diseases. *Surgery* 1983; 94; 415-22.
23. Andreoli SP. Reactive oxygen molecules, oxidant injury and renal disease. *Pediatr Nephrol* 1991;5: 733-42.
24. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Brits Med Bull* 1993;49: 481-493.
25. Morin D, Hauet T, Spedding M, Tillement JP, Mitochondria as target for anti-ischemic drugs. *Adv Drug Deliv Rev* 2001;49: 151-174.
26. Becker LB. New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiolog. *Cardiovasc Res* 2004;61: 461-470.
27. Boyle EM, Pohlman TH, Cornejo CJ, Verrier ED. Ischemia-Reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1997;64:S24-30.
28. Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2000;47: 446-456.
29. Anselmi A, Abbate A, Girola F. Myocardial ischemia, stunning, inflammation and apoptosis during cardiac surgery: a review of evidence. *Eur J Cardio-thorac Surg* 2004;25: 304-311.
30. Ertan T, Soran A, Kılıc M, Aşlar AK, Koc M, Cengiz O. Kan Malondialdehid ve total antioksidan seviyesinin(TAS) önemi. *Cerrahi Tıp Bulteni* 2001,2;4: 154-167.

31. Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J Lipid Res* 2000; 39: 1529-1542.
32. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis* 2000, 21;3: 361-370.
33. Unno N, Fink MP. Nutritional, physiologic, and pathophysiologic considerations of the gastrointestinal tract. Intestinal epithelial hyperpermeability. Mechanisms and relevance to disease. *Gastroenterology Clinics* 1998;27;2: 289-307.
34. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M, Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006;160: 1-40.
35. Park JL, Lucchesi BR, Mechanisms of myocardial reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1999;68: 1905-1912.
36. Gaeta LM, Tozzi G, Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Determination of superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in blood of healthy pediatric subjects. *Clin Chim Acta* 2002;322: 117-120.
37. Barber DA, Harris SR. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am Pharm* 1994;NS34: 26-35.
38. Muzykantov VR, Targeting of superoxide dismutase and catalase to vascular endothelium. *J ContrRelease* 2001;71: 1-21.
39. Seekamp A, Lalonde C, Zhu DG. Catalase prevents prostanoid release and lung lipid peroxidation after endotoxemia in sheep. *J Appl Physiol* 1988;65: 1210-1216.

40. Altuntaş I, Delibaş N, Doğuç DK, Ozmen S, Gültekin. Role of reactive oxygen species in organophosphate insecticide phosalone toxicity in erythrocytes in vitro. *Toxicol in Vitro* 2003;17: 153-157.
41. Pantke U, Volk T, Schmutzler M, Kox WJ, Site N, Grune T. Oxidized proteins as a marker of oxidative stress during coronary heart surgery. *Free Radical Biol Med* 1999;27: 1080-1086.
42. Girn HR, Ahilathirunayagam S, Mavor AI, Homer-Vanniasinkam S. Reperfusion Syndrome: Cellular mechanisms of microvascular dysfunction and potential therapeutic strategies. *Vasc Endovascular Surg* 2007;41: 177-93.
43. Sakamoto H, Corcoran TB, Laffey JG, Shorten GD. Isoprostanes--markers of ischaemia reperfusion injury. *Eur J Anaesthesiol* 2002;19: 550-9.
44. Nelson SK, Gao B, Bose S, Rizeq M, McCord JM. A novel heparin-binding, human chimeric, superoxide dismutase improves myocardial preservation and protects from ischemia-reperfusion injury. *J Heart Lung Transplant* 2002;21: 1296-1303.
45. Grisotto PC, dos Santos AC, Coutinho-Netto J, Cherri J, Piccinato CE, Indicators of oxidative injury and alternations of the cell membrane in skeletal muscle of rats submitted to ischemia and reperfusion. *J Surg Resc* 2000;92: 1-6.
46. Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ. A series of prostaglandin F-2 like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci* 1990;87: 9383-9387.

47. Murrell GA, Francis MJ, Bromley L. Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals. *Biochem J* 1990;265: 659-65.
48. Sun Z, Wang X, Lasson A, Bojesson A, Annborn M, Andersson R. Effects of inhibition of PAF, ICAM-1 and PECAM-1 on gut barrier failure caused by intestinal ischemia and reperfusion. *Scand J Gastroenterol* 2001, 36;1: 55-65
49. Tokgöz G. Sitokinler. *Klinik immünoloji* 1997;11: 85-100.
50. Ladecola C, Alexander M. Cerebral ischemia and inflammation. *Vurr Op Neurology* 2001,14:89-94.
51. Barone FC, Arvin B, White RF. TNF- α : a mediator of focal ischemic injury. *Stroke* 1997;28: 1233-1244.
52. Feurstein GZ, Wang XK, Barone FC. Inflammatory mediators of ischemic injury: cytokine gene regulation in stroke. In: Gingsberg MD, Bogousslavsky J. Eds. *Cerebrovascular disease: Pathophysiology, Diagnosis and Management*, Cambridge: Blackwell 1998, 507-531.
53. Dinarello CA. Biologic basis for IL-1 in disease. *Blood* 1996;87: 2095-2147
54. Pantoni L, Sarti C, Inzitari D. Cytokines and cell adhesion molecules in cerebral ischemia: experimental bases and therapeutic perspectives. *Arteriseler Thromb Vasc Biol* 1998;18: 503-513.
55. Gayle D, Ilyin SE, Miele ME, Plata-Salaman CR. Modulation of TNF- α , mRNA production in rat C6 glioma cells by TNF- α , IL1 β , IL-6 and IFN α : in vitro analysis of cytokine-cytokine interactives. *Brain Res Bull* 1998;47: 231-235.
56. Touzani O, Boutin H, Chuget J, Rothwell N. Potential mechanisms of IL-1 involvement in cerebral ischemia. *J.Neuroimmunol* 1999;100:203-215.

57. Rothwel N. *IL-1 and neuronal injury: mechanisms, modification and therapeutic potential.* *Brain Behav Immun* 2003;17: 152-157.
58. Jennings RB, Reimer KA, Steenbergen C. *Myocardial ischemia revisited. The osmolar load, membrane damage, and reperfusion.* *J Mol Cell Cardiol* 1986; 18: 769-780.
59. Murry CE, Richard VJ, Reimer KA, Jennings RB. *Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode.* *Circ Res* 1990;66: 913- 931.
60. Bolli R. *The early and late phases of preconditioning against myocardial stunning and the essential role of oxyradicals in the late phase: an overview.* *Basic Res Cardiol* 1996; 91: 57-63.
61. Corbucci GG, Lettieri B, Damonti V, Palombari R, Arienti G, Palmerini CA, *Nitric oxide in ischemic and reperfused human muscle.* *Clin Chim Acta* 2002;318: 79-82.
62. Biglioli P, Cannata A, Alamanni F. *Biological effects of off-pump vs on-pump coronary artery surgery: focus on inflammation, hemostasis and oxidative stress.* *Eur J. CArdio-thorac Surg* 2003;24: 260-269.
63. Ames A, Wright RL, Kowada M. *Cerebral ischemia II, The no-flow phenomenon.* *Am J Pathol* 1968;52: 437-453.
64. Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie RJ, Maroko PR, Vatner SF. *Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs.* *J Clin Invest* 1975;56: 978-85.
65. Bhana N, Goa KL, McClellan KJ. *Dexmedetomidine* *Drugs* 2000;59: 263-268.

66. Günes Y, Gündüz M. Deksmedetomidin; Farmakolojik Özellikleri ve Anestezi Pratigindeki Yeri. *Arsiv* 2006;15: 176.
67. Peden CJ, Cloote AH, Stratford N. The effect of intravenous dexmedetomidine premedication on the dose requirement of propofol to induce loss of consciousness in patients receiving alfentani. *Anaesthesia* 2001; 56: 408-413.
68. Scholz J, Tanner PH. Alpha2- adrenoceptor agonists in anaesthesia: a new paradigm. *Current Opinion in Anaesthesiology* 2000;13: 437-442.
69. Hall JE, Uhrich TD, Barney JA, Arain SR, Ebert TJ. Sedative, amnestic and analgesic properties of small-dose dexmedetomidine infusions. *Anesth Analg* 2000;90: 699-705
70. Shahbaz R. Arain, and Thomas J. Ebert. The efficacy, side effects and recovery characteristics of dexmedetomidine versus propofol when used for intraoperative sedation, *Anesth Analg* 2002; 95: 461-6.
71. Aho M, Lehtinen AM, Erkola O, Kallio A, Kortilla K. The effect of intravenously administered dexmedetomidine on perioperative hemodynamics and isoflurane requirements in patients undergoing abdominal hysterectomy. *Anesthesiology* 1991; 74: 997-1002.
72. Fragen FJ, Fitzgerald PC. Effect of dexmedetomidine on the minimum alveolar concentration (MAC) of sevoflurane in adults age 55 to 75 years. *J Clin Anesth* 1999; 11: 466-470.
73. Ronald D. Miller. *Miller's Anesthesia Sixth Edition*.

74. Triltsch AE, Welte M, von Homeyer P, Grosse J, Genähr A, Moshirzadeh M et al. Bispectral index-guided sedation with dexmedetomidine in intensive care: A prospective, randomized, double blind, placebo-controlled phase II study. *Crit Care Med* 2002; 30: 1007-1014.
75. Aantaa R. Assessment of the sedative effects of dexmedetomidine, an alpha-2 adrenoceptor agonists, with analysis of saccadic eye movements. *Pharmacol Toxicol* 1991; 68: 394-8.
76. Jalonen J, Hynynen M, Kuitunen A. Dexmedetomidine as an anesthetic adjunct in coronary artery bypass grafting. *Anesthesiology* 1997 ;86:331-345.
77. Roekaerts P, Prinzen F, Willingers H. The effect of dexmedetomidine on systemic haemodynamics, regional myocardial function and blood flow during coronary artery stenosis in acute anaesthetized dogs. *J Cardiothorac Anesth* 1994; 8
78. Ruesch S, Levy JH. Treatment of persistent tachycardia with dexmedetomidine during off-pump cardiac surgery. *Anesth Analg* 2002 ;95:316-318.
79. Laudénbach V, Mantz J, Evrard P. Dexmedetomidine protects against neonatal excitotoxic brain injury. 2000 ASA Meeting Abstract number A732
80. Doenicke A, Kettler D, List WF, Radke J, Tornow J. *Anaesthesiologie* 7. Auflage. Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hong Kong Barcelona Budapest. Springer Verlag 1995; 70-76
81. Kress HG. Wirkmechanismen von Ketamin. *Der Anaesthesist* 1997; Supplement I. S8-S19

82. Morgan EG, Mikhail SM. *Clinical Anaesthesiology Fourth Edition*. The McGraw-Hill Companies 2008.
83. Esener Z. *Klinik Anestezi. 1. Basım, Samsun: Logos Yayıncılık, 1991.*
84. Schmid RL, Sandler AN, Katz J. Use and efficacy of low dose ketamine in the management of acute postoperative pain: a review of current techniques and outcome pain. 1999; 82 : 111-125.
85. Rothen HV, Sporre B, Endberg G, Wegenius G, Reber A, Hedenstierna G. Influence of gas composition on recurrence of atelectasis after a reexpansion manaver during general anaesthesia. *Anaesthesiology* 1995; 82: 832-842.
86. Detsch O, Kochs E, Effekte von Ketamine auf die 2NS- Funktion, *Der Anaesthesist* 1997; Supplement I. S20-S29
87. Engelhardt W, Aufwachverhalten und psychomimetische reaktionen nach S – (+) Ketamin. *Der anaesthesist* 1997; S28-S41
88. Pfeninger E, Himmelseber S, Neuroprotektion durch Ketamin auf zelülaerer ebene. *Der Anaesthesist* 1997; Supplement I. S47-S54
89. Raves JG, Flezzani P, Kissin I. Pharmacology of intravenous anaesthetic induction drugs p.125. In caplan JA (ed): *Cardiac anaesthesia*, 2nd ed., Grune & Stratton, Orlando, FL. 1987.
90. Alam S, Saito Y, Kosaka Y, Actinociceptive Effects of Epidural and Intravenous Ketamine to Somatic and Visceral Stimuli in Rats. *Can J Anaesth* 1996; 43: 4: 408-413.

91. Werner C, Reeker W, Engelhard K, Kochs H. Ketamin – Razemat und s – (+) Ketamin zerebrovaskulaere effekte und neuro protection nach fokaler ischaemie, *Der Anaesthesist* 1997; Supplement I. S55-S60.
92. Sharp PE, La Regina MC. Important biological features. In: *The Laboratory Rat*. Suchow MA (ed), Florida: CRC Pres. 1998;1-15
93. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193: 265-75.
94. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990;186:421-31.
95. Levin RL, Garland D, Oliver CN et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 1990;186:464-478
96. Sun Y., Oberley LW., Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase *Clin. Chem* 34: 497-500 (1988).
97. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70 : 158-69.
98. Robicsek F, Schaper J. Reperfusion injury: Fact or myth?, *J Cardiac Surg* 1997;12:133-7)[12]
99. Sloan RC, Rosenbaum M, O'Rourke D, Oppelt K, Frasier CR, Waston CA et al. High doses of ketamine-xylazine anesthesia reduce cardiac ischemia-reperfusion injury in guinea pigs. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2011;50: 349-54.
100. Regueiro-Purriños M, Fernández-Vázquez F, de Prado AP, Altónaga JR, Cuellas-Ramón C. Ventricular arrhythmias and mortality associated with

isoflurane and sevoflurane in a porcine model of myocardial infarction. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2011 Jan;50: 73-8.

101. Müllenheim J, Frässdorf J, Preckel B, Thämer V, Schlack W. Ketamine, but not S(+)-ketamine, blocks ischemic preconditioning in rabbit hearts in vivo. *Anesthesiology* 2001;94: 630-6.

102. Willigers HM, Prinzen FW, Roekaerts PM, de Lange S, Durieux ME. Dexmedetomidine decreases perioperative myocardial lactat release in dogs. *Anesth Analg* 2003; 96:657–764.

103. Ruesch S, Levy JH. Treatment of persistent tachycardia with dexmedetomidine during off-pump cardiac surgery. *Anesth Analg* 2002; 95: 316-318.

104. Levänen J, Mäkelä ML, Scheinin H. Dexmedetomidine premedication attenuates ketamine-induced cardiostimulatory effects and postanesthetic delirium. *Anesthesiology* 1995;82: 1117-25.

105. Alonen J, Hynynen M, Kuitunen A, Heikkilä H, Perttälä J, Salmenperä M, et al. Dexmedetomidine as an anesthetic adjunct in coronary artery bypass grafting. *Anesthesiology* 86: 331-345, 1997.

106. Ramsay MA, Lerman DL: Dexmedetomidine as a total intravenous anesthetic agent. *Anesthesiology* 101: 787- 790, 2004.

107. Jaakola ML, Salonen M, Lehtinen R, Scheinin H. The analgesic action of dexmedetomidine – a novel alpha 2-adrenoceptor agonist – in healthy volunteers. *Pain* 46: 281-285, 1991.

- 108.** Tappel A. L. *Lipid peroxidation damage to cell components. Fed. Proc.* 32: 1870- 1874, 1973.
- 109.** Jaeschke H, Smith C W, Clemens MG, Ganey PA, Roth R A. *Mechanism of inflammatory liver injury: adhesion molecules and cytotoxicity of neutrophils. Toxicol. Appl. Pharmacol* 139: 213-226, 1996.
- 110.** Xu Y, Liu B, Zweier JL, He G. *Formation of hydrogen peroxide and reduction of peroxynitrite via dismutation of superoxide at reperfusion enhances myocardial blood flow and oxygen consumption in postischemic mouse heart. J Pharmacol Exp Ther* 2008;327: 402-10.
- 111.** Salman AE, Dal D, Salman MA, Iskit AB, Aypar U. *The effect of ketamine on acute muscular ischaemia reperfusion in rats. Eur J Anaesthesiol* 2005;22: 712-6.
- 112.** Oksuz H, Senoglu N, Yasim A, Turut H, Tolun F, Ciralik H, et al. *Propofol with N-acetylcysteine reduces global myocardial ischemic reperfusion injury more than ketamine in a rat model. J Invest Surg* 2009;22: 348-52.
- 113.** Wheeler CR, Salzman JA, Elsayed NM, Omaye ST, Korte DW Jr, *Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activity. Anal Biochem* 1990;184: 193-9.
- 114.** Johnson F, Giulivi C. *Superoxide dismutases and their impact upon human health. Mol Aspects Med* 2005;26: 340-52.
- 115.** Hillegass L. M, Griswold DE, Brickson B, Albrightson-Winslow C. *Assesment of myeloperoksidase in whole rat kidney. J Pharmacol Method* (1990) 24 285-295.

116. Siegers CP, Riemann D, Thies E, Younes M. Glutathione and GSH-dependent enzymes in the gastrointestinal mucosa of the rat. *Cancer Lett* (1998) 40 71-76.
117. Shirasugi N, Wakabayashi G, Shimazu M, Oshima A, Shito M, Kawachi S, et al. Up-regulation of oxygen-derived free radicals by interleukin-1 in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Transplantation* 1997;64: 1398-403.
118. Livingston DH, Mosenthal AC, Deitch E. Sepsis and multipl organ dysfunction syndrome: aclinical-mechanistic overview. *New Horizons*. 1995; 3: 276-287.
119. Pruitt J H, Copeland EM, Moldawer LL. Interleukin-1 and Interleukin-1antagonism in sepsis systemic inflammatory response syndrome and septic shock. *Shock* 1995; 3: 235-251.
120. Williams G, Giroir B. Regulation of cytokine gene expression: tumor-necrosis factor, interleukin-1, and the emerging biology of cytokine receptors. *New Horizons* 1995; 3: 276-287.
121. Hayashida N, Tomoeda H, Oda T. Inhibitory effect of milrinone on cytokine production after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1999;68: 1661-7.
122. Rie Kato, Pierre Foëx. Myocardial protection by anesthetic agents against ischemia-reperfusion injury: an update for anesthesiologists *Can J Anaesth* 2002;49: 777-91.
123. Freedman BM, Hamm DP, Everson CT, Wechsler AS, Christian CM II. Enflurane enhances postischemic functional recovery in the isolated rat heart. *Anesthesiology* 1985; 62: 29-33.

124. Schultz JEJ, Rose E, Yao Z, Gross GJ. Evidence for involvement of opioid receptors in ischemic preconditioning in rat hearts. *Am J Physiol* 1995; 268: H2157–61.
125. Kahraman S, Demiryurek AT. Propofol is a peroxynitrite scavenger. *Anesth Analg* 1997; 84: 1127–9
126. Ko SH, Yu CW, Lee SK. Propofol attenuates ischemia-reperfusion injury in the isolated rat heart. *Anesth Analg* 1997; 85: 719–24.
127. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124–36.
128. Ríha H, Kotulák T, Březina A, Hess L, Kramář P, Szárszoi O. et al. Comparison of the effects of ketamine-dexmedetomidine and sevoflurane-sufentanil anesthesia on cardiac biomarkers after cardiac surgery: an observational study. *Physiol Res* 2012;61: 63-72.
129. Engelhard K, Werner C, Eberspa E, Bachl M, Blobner M, Hildt E et. al. The Effect of the α -2-Agonist Dexmedetomidine and the N-Methyl-D-Aspartate Antagonist S(-)-Ketamine on the Expression of Apoptosis-Regulating Proteins After Incomplete Cerebral Ischemia and Reperfusion in Rats, *Neurosurgical Anesthesia* 2003;96: 524–31.
130. Brezina A, Drabek T, Ríha H, Schreiberova J, Hess L. The effect of medetomidine-ketamine anesthesia on hemodynamic parameters during hemorrhagic shock in minipigs. *Physiol Res* 59: 703-710, 2010.

131. Wijesundera DN, Naik JS, Beattie WS. Alpha-2 adrenergic agonists to prevent perioperative cardiovascular complications: a meta-analysis. *Am J Med* 2003; 114:742-52.

8. ÖZET

Ratlarda Kardiyak İskemi/Reperfüzyon Hasarında Deksmetomidin ve Ketaminin Etkilerinin Karşılaştırılması

Herhangi bir sebeple iskemi (MI, perkütan koroner girişim sonrası, kardiyak cerrahi sırasında) ve ardından reperfüzyon olduğunda genelde iskeminin süresine bağlı olarak antioksidan savunma mekanizmaları yetersiz kalır ve hücrelerde artan SOR' lar hasar meydana getirir. İskemik dokuların reperfüzyonu sırasında doku hasarına neden olan ve inflamatuvar reaksiyonlar zincirini aktifleştiren sitokinler salınmaktadır. Bu çalışmada ratlarda kardiyak iskemi/reperfüzyon hasarında deksmedetomidin ve ketaminin etkilerinin karşılaştırılması amaçlandı.

Çalışmada deney hayvanı olarak kullanılan 18 rat; Grup I/R (n=6): kontrol, Grup I/R-K (n=6): ketamin, Grup I/R-D (n=6): deksmedetomidin olarak rastgele üç gruba ayrıldı. Kalpte 45 dk iskemi sonrası 120 dk reperfüzyon uygulanan ratların kalplerinden alınan doku örneklerinde, MDA, SOD, GSH-Px, IL-1 β , TNF- α düzeyleri ve hemodinamik parametreleri karşılaştırıldı.

MDA ve GSH-Px düzeyleri; kontrol grubunda ketamin ve deksmedetomidin gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Ketamin ve deksmedetomidin gruplarında ise benzer bulundu. SOD düzeyleri; ketamin ve deksmedetomidin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu. Ketamin ve deksmedetomidin grubunda benzer bulundu. IL-1 β sonuçları bütün gruplarda benzer bulundu.

TNF- α seviyeleri; deksmedetomidin ve ketamin grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu. Deksmetomidin ve ketamin gruplarında benzer bulundu.

Deksmetomidinin daha iyi kalp hızı kontrolü sağladığı ancak hipotansiyona neden olduğu, dolayısıyla kardiyak depresif etkisi nedeniyle klinik kullanımında dikkatli olunması gerektiği kanısına varıldı. Deksmetomidin ve ketaminin miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarını azaltıcı etkilerinin benzer olduğunu gösteren sonuçlara ulaşıldı.

9. SUMMARY

Comparison of Dexmedetomidine Versus Ketamine's Effects on Rat Cardiac Ischemia/Reperfusion Injury

Depending on the duration of ischemia, reactive oxygen species which are related cellular injury, may occur after I/R injury of various etiology (MI, after percutaneous coronary intervention, during cardiac surgery). After that, free oxygen radicals increasing within the cell, cause structural deterioration. Cytokines which activates a series of reactions that cause tissue damage and inflammatory response are released during reperfusion of ischemic tissues. In this study, we aimed to compare the effects of dexmedetomidine and ketamine on ischemia/reperfusion injury.

Eighteen rats are divided into three groups randomly, Group I/R (n=6):control, Group I/R-K (n=6): ketamine, and Group I/R-D (n=6): dexmedetomidine. Heart tissue samples were obtained following 45 minutes of ischemia and 120 minutes of reperfusion period for assessing MDA, SOD, GSH-Px, IL-1 β , TNF- α levels. Hemodynamic parameters were also compared.

MDA ve GSH-Px levels were significantly higher in control group than ketamine and dexmedetomidine groups, however both parameters were similar in ketamine and dexmedetomidine groups.

SOD levels were significantly lower in ketamine and dexmedetomidine groups than the control group. However, they were similar between ketamine and dexmedetomidine groups.

IL-1 β levels were similar in all groups.

TNF- α levels were significantly lower in ketamine and dexmedetomidine groups compared to control group. However, they were similar between ketamine and dexmedetomidine groups.

Dexmedetomidine provides better heart rate control but causes hypotension. Therefore we believe that, its clinical use needs special attention because of this cardidepressant effects. It was concluded that dexmedetomidine and ketamine had similar effects on reducing myocardial ischemia reperfusion injury.

10. ETİK KURUL ONAYI



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/456-12237
KONU :

30.06/2011

Sayın

Prof.Dr.Füsun BOZKIRLI
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Füsun BOZKIRLI, Leyla GÜLER, Nurdan BEDİRLİ ve Bülent UYSAL'dan oluşan, G.Ü.ET-11.078 kod numaralı ve "Ratlarda Kardiyak İskemi-Reperfüzyon Hasarında Deksmetomidin ve Ketaminin Etkilerinin Karşılaştırılması" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-11.078 and entitled "Comparison of Ketamine Versus Dexmedetomidine in Rat Cardiac Ischemia-Reperfusion Injury" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste

Prof.Dr. Gülşah ALI HASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Leyla

Soyadı : GÜLER

Doğum yeri ve tarihi : Gelibolu / Çanakkale - 02.10.1976

Eğitimi : Araştırma Görevlisi Dr.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Anestezi ve Reanimasyon AD. 2007- Halen

Fakülte : Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2001

Lise : Kırşehir Hacı Fatma Erdemir Anadolu Lisesi, 1994

Yabancı dil : İngilizce

Üye olduğu bilimsel kuruluşlar: Yok

Bilimsel aktiviteler : Ratlarda Kardiyak İskemi/Reperfüzyon Hasarında

Deksmedetomidin ve Ketaminin Etkilerinin

Karşılaştırılması, Tez Çalışması