

**T.C.**  
**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**RATLARDA**  
**BÖBREK İSKEMİ VE REPERPÜZYON HASARINDA KETAMİNİN FARKLI**  
**DOZLARININ ETKİLERİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**YRD. DOÇ. DR. NİMET ŞENOĞLU**

**DR. HİLMİ DEMİRKİRAN**  
**UZMANLIK TEZİ**

**KAHRAMANMARAŞ / 2011**

**T.C.**  
**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**RATLARDA**  
**BÖBREK İSKEMİ VE REPERPÜZYON HASARINDA KETAMİNİN FARKLI**  
**DOZLARININ ETKİLERİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**YRD. DOÇ. DR. NİMET ŞENOĞLU**

**DR. HİLMİ DEMİRKİRAN**  
**UZMANLIK TEZİ**

**Bu araştırma KSÜ BAPKB tarafından 2010/3-10D ile desteklenmiştir.**

## **TEŞEKKÜR**

*Uzmanlık eğitimim boyunca bana emeği geçen ve her zaman olduğu gibi bu çalışma sırasında desteklerini eksik etmeyen değerli hocam Doç. Dr. Hafize ÖKSÜZ'e, hocam ve tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Nimet ŞENOĞLU'na, hocalarım Yrd. Doç. Dr. Zafer DOĞAN'a, Yrd. Doç. Dr. Hüseyin YILDIZ'a ve Yrd. Doç. Dr. İsmail COŞKUNER'e teşekkür ederim.*

*Yine bu çalışma sırasında emeklerini ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Fatih YÜZBAŞIOĞLU'na, Doç. Dr. Harun ÇIRALIK'a, Doç. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN'a, Doç. Dr. Murat ARAL'a, Doç. Dr. Ali ÇETİNKAYA'ya, Arş. Gör. Dr. Mustafa GÖKSU'ya, Arş. Gör. Dr. Fazıl AVCI'ya, Yüksek Lisans Asist. Yasemin APAK'a, Lab. Tek. Hacer UĞURLU'ya*

*Çalışmalarım ve uzmanlık eğitimim süresi boyunca beraber çalıştığım Arş. Gör. Dr. Mahperi KUTLUCAN BAĞCI'ya, Arş. Gör. Dr. Cevdet YARDIMCI'ya ve tüm asistan arkadaşlarıma,*

*Uzmanlık eğitimim süresince her türlü sıkıntımı paylaşan, büyük bir özveriyle bana destek olan eşime ve çocuklarıma,*

*Sonsuz teşekkürlerimle...*

*Dr. Hilmi DEMİRKIRAN*

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER .....	II
TABLolar DİZİNİ .....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IV
KISALTMA LİSTESİ.....	V
ÖZET.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 İskemi/Reperfüzyon Hasarı.....	3
2.1.1 İskemi Reperfüzyon Hasarının Mekanizması .....	4
2.1.2 İskemik Akut Böbrek Yetmezliği.....	5
2.2 Serbest Radikaller.....	7
2.2.1 Singlet Oksijen .....	9
2.2.2 Serbest Radikallerin Biyolojik Hedefleri.....	9
2.3 Antioksidan Savunma Mekanizmaları.....	11
2.3.1 Enzimatik Antioksidanlar .....	12
2.3.2 Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar.....	15
2.3.3 Eksojen Antioksidanlar.....	17
2.4 Hücre İçi Kalsiyum Artışı.....	18
2.5 Ksantin Oksidaz sistemi.....	19
2.6 Lökosit (Nötrofil, lenfosit, monosit) Aktivasyonu .....	20
2.7 Komplemanın Rolü.....	20
2.7.1 Tümör Nekroz Faktörü- alfa (TNF- $\alpha$ ) .....	21
2.7.2 İnterlökin-1 (IL-1) .....	23
2.7.3 İnterlökin-6 (IL-6) .....	23
2.8 Ketamin.....	24
2.8.1 Kimyasal Yapı ve İzomerleri .....	24
2.8.2 Doz ve Uygulama Yolları.....	25
2.8.3 Etki Mekanizmaları .....	26
2.8.4 Farmakoloji .....	27
2.8.5 Kardiyovasküler sistem üzerine etkileri .....	27
2.8.6 Solunum sistemi üzerine etkileri .....	28
2.8.7 Santral Sinir Sistemi Etkileri.....	28

2.8.8 Diğer sistemlere etkileri.....	29
3. MATERYAL METOD.....	30
3.1 Deney Hayvanları.....	30
3.2 İskemi Reperfüzyon Hasarı Modeli.....	30
3.3 Deney Grupları.....	31
3.4 Kullanılan İlaçlar:.....	32
3.5 Biyokimyasal İnceleme Yöntemleri.....	32
3.6 Doku Analizleri.....	33
3.6.1 Doku MDA Analizi.....	33
3.6.2 Doku SOD Analizi.....	33
3.6.3 Doku GPx Analizi.....	34
3.6.4 Doku NO Analizi.....	34
3.7 Proinflamatuvar Komponent Düzeylerinin Araştırılması.....	34
3.7.1 Tümör Nekroz Faktör - Alfa (TNF – $\alpha$ ).....	34
3.7.2 IL-1 (İnterlökin 1).....	35
3.7.3 IL-6 (interlökin 6).....	35
3.8 Histopatolojik Olarak İncelenmesi.....	35
3.9 İstatistik.....	35
4. BULGULAR.....	36
4.1 IL-1, IL-6 Değerleri Üzerine etkiler.....	36
4.2 TNF- $\alpha$ Değerleri Üzerine Etkileri.....	38
4.3 MDA Değerleri Üzerine Etkiler.....	39
4.4 SOD Değerleri Üzerine Etkiler.....	40
4.5 NO Değerleri Üzerine Etkiler.....	41
4.6 GPx Değerleri Üzerine Etkiler.....	42
4.7 Histopatolojik Bulgular.....	43
4.7.1 Böbrek Dokusunun Hematoksilen-Eosin İle Boyanma Özellikleri.....	43
4.7.2 Böbrek Dokusunun H-E Skorları.....	43
4.7.3 Böbrek Dokusunun H-E Skorları.....	43
5.TARTIŞMA.....	45
6- SONUÇLAR.....	50
KAYNAKLAR.....	51

## TABLolar DİZİNİ

Tablo I: Ketaminin doz ve uygulama yolları.....	25
Tablo II: Deney gruplarının IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , MDA, SOD, NO, GPx analiz sonuçları.....	36
Tablo III: Böbrek dokusu histopatolojik analiz sonuçları.....	44

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Ksantin oksidaz sisteminin radikal oluşturma mekanizması.....	5
Şekil 2: Antioksidan savunma mekanizması.....	13
Şekil 3: GSH redoks döngüsü.....	16
Şekil 4: Ketaminin moleküler yapısı.....	25
Şekil 5. Normal böbrek.....	32
Şekil 6. İskeminin 60. Dakikasında böbrek.....	32
Şekil 7. Reperfüzyonun 60. dakikasında böbrek.....	32
Şekil 8. Böbrek materyalinin ikiye bölünmüş görünümü.....	32
Şekil 9. Gruplarda IL-1 ve IL-6 değerleri.....	37
Şekil 10. Gruplarda TNF- $\alpha$ değerleri.....	38
Şekil 11. Gruplarda MDA değerleri.....	39
Şekil 12. Gruplarda SOD aktivitesi.....	40
Şekil 13. Gruplarda NO değerleri.....	41
Şekil 14. Gruplarda GPx aktivitesi.....	42
Şekil 15. Normal medüller yapı.....	43
Şekil 16. Hafif dereceli konjesyon.....	43
Şekil 17. Orta dereceli konjesyon.....	43
Şekil 18. Şiddetli dereceli konjesyon.....	43
Şekil 19. Grupların histopatolojik skorlanması.....	44

## KISALTIMA LİSTESİ

- ACTH: Adreno kortiko tropik hormon  
ADP: Adenozin difosfat  
AMP: Adenozin monofosfat  
ATN: Akut tübüler nekroz  
cGMP: Siklik guanozin mono fosfat  
eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentaz  
EC-SOD: Ekstra sellüler süper oksid dismutaz  
EDRF: Endothelial derive relaese faktör  
ELAM-1: Endothelial leukocyte adhesion molecule-1  
ICAM-1: İnter cellular adhesion molecule-1  
iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz  
nNOS: Nöronal nitrik oksit sentaz  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hidrojen peroksit  
HOCl: Hipoklorik asit  
G6PD: Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz  
GSH: Redükte Glutasyon  
GSSG: Oksitlenmiş glutasyon  
GPx: Glutasyon peroksidaz  
GRx: Glutasyon redüktaz  
GST: Glutasyon S- transferaz  
IL: İnterlökin  
IFN- $\gamma$ : İnterferon gama  
İ/R: İskemi reperfüzyon  
SOR: Serbest oksijen radikalleri  
KAT: Katalaz  
KO: Ksantin oksidaz  
KORs: Ksantin oksido redüktaz  
KD: Ksantin dehidrogenaz  
LOOH: Lipid hidroperoksid  
MDA: Malondialdehit  
MHC: Major histocompatibility complex

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat  
NMDA: N-metil-D-aspartat  
NO: Nitrik oksit  
 $O_2^-$ : Süperoksit radikali  
 $O_2$ : Singlet oksijen  
 $OH^-$ : Hidroksil radikali  
 $OONO^-$ :Peroksinitrit  
PMNL: Polimorf nüveli lökosit  
PAYA: Poli ansatüre yağ asidi  
PAF: Platelet aktive edici faktör  
 $R^-$ : Organik radikaller  
 $RCOO^-$ : Organik peroksid radikali  
RNA: Ribonükleik asit  
ROS: Reaktif oksijen türevleri  
 $ROO^-$ : Peroksi radikal  
SOD: Süperoksit dismutaz  
sTNFR: Solübl tümör nekroz faktör reseptörü  
TNF- $\alpha$ : Tümör nekroz faktör alfa



## ÖZET

### RATLARDA RENAL İSKEMİ VE REPERFÜZYON HASARINDA KETAMİNİN FARKLI DOZLARININ ETKİLERİ

Bu çalışmanın amacı, ketaminin farklı dozlarının ratlarda serbest radikal aracılığıyla oluşan böbrek iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarına etkilerini araştırmak ve karşılaştırmaktır.

Çalışmamızda 42 adet wistar albino cinsi erkek rat 7 farklı gruba ayrılmıştır. Ratlara intraperitoniyal (İP) Urethan % 99 1 gr.kg<sup>-1</sup> dozda verilerek anestezi sağlandı. Sham grubuna sadece laparotomi uygulandı ve hiçbir işlem yapılmadan 120 dakika beklendi. Kontrol grubunda 60 dakika renal iskemi ve 60 dakika reperfüzyon uygulandı. Ketamin gruplarında iskeminin 45. dakikasında, ketamin farklı dozlarda (3 mg.kg<sup>-1</sup>, 10 mg.kg<sup>-1</sup>, 30 mg.kg<sup>-1</sup>, 60 mg.kg<sup>-1</sup>, 80 mg.kg<sup>-1</sup>) İP yoldan verildi. 60 dakikalık iskemi süresi sonunda klempler açıldı. Reperfüzyon döneminin sonunda ratlardan böbrek dokusu ve kan örnekleri alındı. Plazma örneklerinde proinflamatuvar ajanların (IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$ ) analizleri yapıldı. Böbrek dokusu ile de histopatolojik ve biyokimyasal (MDA, SOD, GPx, NO) değerlendirmeler yapıldı. Sonuçlar birbirleriyle istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Ketaminin 10 mg.kg<sup>-1</sup>, 30 mg.kg<sup>-1</sup>, 60 mg.kg<sup>-1</sup>, 80 mg.kg<sup>-1</sup> dozlarında uygulandığı gruplarda İRH'ya yararlı etkileri doku biyokimyasal (MDA, SOD, GPx ve NO) değerler üzerinde gözlemlendi. Ketaminin bu dozlarında İ/R grubundan proinflamatuvar ve histopatolojik doku hasar düzeylerinde fark bulunamadı. Ketamin 3 mg.kg<sup>-1</sup> dozunda uygulandığında İRH'ya yararlı etkileri, doku biyokimyasal (MDA, SOD, GPx ve NO) değerler üzerinde, plazma proinflamatuvar (IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$ ) değerler üzerinde ve doku hasarı düzeylerinde histopatolojik olarak gözlemlendi (p<0.05).

Ketaminin, proinflamatuvar, biyokimyasal ve histopatolojik tablo açısından ratlarda oluşan böbrek İ/R hasarını doz bağımlı olarak azaltmaktadır (p<0.05). Bu sonuçlar; ketaminin proinflamatuvar sitokinlerin salınımını baskılayıcı ve serbest radikal salınımını engelleyici özelliğinden kaynaklanıyor olabilir.<sup>3</sup>

**Anahtar kelimeler: İskemi ve reperfüzyon hasarı, Ketaminin farklı dozları, Urethan.**

## ABSTRACT

### THE EFFECTS OF DIFFERENT DOSES OF KETAMINE ON THE RENAL ISCHEMIA AND REPERFUSION INJURY IN THE RATS

The aim of this study is to compare the effect of different doses of ketamin on the renal I/R injury developing via free oxygen radicals in rats.

In our study, 42 genus wistar albino male rats were randomized in the 7 different groups. Anesthesia was acquired by applying Urethane 99 % 1 gr.kg<sup>-1</sup> intraperitoneally to the rats. Just laparotomia was performed to the sham group and waited without doing any procedure for 120 minutes. In the control group, 60 minutes ischamiae and 60 minutes of reperfusion performed. In ketamin groups at the 45 th minute, ketamin was applied intraperitoneally in different doses (3 mg.kg<sup>-1</sup>, 10 mg.kg<sup>-1</sup>, 30 mg.kg<sup>-1</sup>, 60 mg.kg<sup>-1</sup>, 80 mg.kg<sup>-1</sup>). After 60 minutes ischamiae period, clamps were opened. After the reperfusion period, samples of renal tissue and blood were obtained. In serum samples, proinflammatory agents (IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$ ) were analysed. Biochemical (MDA, SOD, GPx, NO) and histopathologic investigations were done with renal tissue samples. The results were compared between them statistically.

The useful effects of ketamine on the I/R injury was observed on the levels of tissue biochemical (MDA, SOD, GPx and NO) values in the ketamine applied groups 10 mg.kg<sup>-1</sup>, 30 mg.kg<sup>-1</sup>, 60 mg.kg<sup>-1</sup>, 80 mg.kg<sup>-1</sup> doses. At these doses of ketamine, no difference was found in the I/R injury groups according to the proinflammatory values and histopathologic tissue damage levels. When ketamine was applied, its useful effects on the IRI were observed on tissue biochemical (MDA, SOD, GPx and NO) levels, serum proinflammatory (IL-1, IL-6 and TNF- $\alpha$ ) levels and histopathologic tissue damage as a dose dependant manner. Ketamine lowers the IRI developing on the rats, biochemically and histopathologically. These results may be originated from the suppressing effects of ketamine on the release of proinflammatory cytokines and free oxygen radicals.<sup>3</sup>

**Key words; İschæmia and reperfusion injury, The different doses of ketamine, Urethane**

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi-reperfüzyon (İ/R), doku veya organa giden kan akımında bir süre azalma ve sonrasında yeniden kanlanma olarak tanımlanmaktadır.<sup>4, 5</sup> Major travma, sistemik hipotansiyon, hipovolemik şok, kardiyak arrest, renovasküler cerrahi, aortun klempajı ve organ hasarı gibi klinik durumlar sırasında böbrekte sıcak iskemi-reperfüzyon hasarı (İRH) oluşabilmektedir. Bu hasarın şiddeti iskemi süresine paralel olarak artmakta, sonuçta belirgin doku hasarı olmaksızın gelişen prerenal azotemiden, tübüler veya kortikal nekroza bağlı ciddi akut böbrek yetmezliğine kadar değişebilen farklı klinik tablolar karşımıza çıkabilmektedir. Perioperatif böbrek yetmezliği riski olan hastalarda, transplantasyon gibi cerrahi girişimlerde, anesteziik madde böbrek fonksiyonlarını korumak için seçilmelidir. Ama hala böbrek fonksiyonlarını koruyacak ideal anesteziik madde geliştirilememiştir. Bu tip hastalar perioperatif morbidite ve mortalite ile karşı karşıyadır.<sup>6-8</sup>

Organizma İ/R sonrası oluşan serbest oksijen radikalleri (SOR)'ne karşı kendisini antioksidan enzim sistemi ile savunur. Bu enzimler İRH'da dokuda biriken SOR'un detoksifikasyonunda görevlidir. Antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GPx), İ/R'la oluşan süperoksit ( $O_2^-$ ) ve hidrojen peroksid ( $H_2O_2$ ) radikallerinin hücre için daha toksik olan hidroksil radikaline ( $OH^-$ ) çevrilmeden detoksifikasyonunda rol oynarlar. Ayrıca İ/R'la oluşmuş serbest radikallerin hasarına bağlı olarak hücre membranındaki poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu, organellerde Malondialdehit (MDA) birikimi olur. Lipid peroksidasyonu ile oluşan MDA membran yapısına membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olarak zarar verir.<sup>9</sup>

Erken reperfüzyon hasarı nötrofil ve makrofaj aktivasyonunu artırmakla birlikte makrofajlardan proinflatuar sitokinlerin salınımını da tetiklemektedir. Bu sitokinler ise geç dönemde nötrofil ve T-lenfosit aktivasyonuna yol açmaktadır. Sonuçta majör organlarda mikrovasküler endotel hasarına bağlı geçirgenlik artışı, trombosit agregasyonu ve nekroz alanları oluşmaktadır.<sup>4,10</sup>

Özellikle sepsisli hastaların anestezi indüksiyonunda kullanıldığında ketamin, proinflatuar sitokin salınımını baskılamaktadır. Nötrofillerin SOR üretimini inhibe ettiği invitro çalışmalarda gösterilmiştir. Nötrofillerin ayrıca TNF- $\alpha$  üretimini de baskılayarak endotoksine bağlı hücre bütünlüğünün bozulmasını engellediği de ileri sürülmektedir.<sup>11</sup>

İskemi reperfüzyon hasarı tedavisi için birçok ilaç ve antioksidan maddeler denenmiş ve halen üzerinde çalışılmaktadır. Son yıllarda klinikte böbrek İ/R hasarını engellemeye yönelik birbirinden farklı yaklaşımlar denenmektedir.<sup>12</sup>

Çalışmamızda böbrek iskemi ve sonrasındaki reperfüzyon sonucu ortaya çıkan serbest radikal ve proinflamatuvar komponentlere karşı, güncel bir anestezi ajan olan ketaminin farklı dozlardaki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1 İskemi/Reperfüzyon Hasarı

Bir dokunun arteriyel ya da venöz kan akımının pıhtı veya mekanik etken gibi herhangi bir nedenle azalmasına bağlı yetersiz perfüzyonu sonucu dokunun oksijenden yoksun kalmasına ve beslenmesinin bozulmasına iskemi denir.<sup>5</sup>

İskemi sonucunda doku hipoksida kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar. İskemi, hücrede enerji düzeyinin düşmesine, toksik metabolitlerin dokuda birikmesine yol açarak hücre disfonksiyonu ve sonrasında hücre ölümüne kadar gidebilen biyokimyasal reaksiyonu başlatır. İskemi sonrasında hücrelerde pek çok metabolik ve yapısal değişiklikler oluşmaktadır.<sup>4</sup>

İskemi hücrede oksidatif fosforilasyonu bozarak hücre içi adenzin trifosfat (ATP) ve fosfokreatin sentezinde azalmaya yol açmaktadır. Bunun sonucunda, asidoz oluşmakta ve boşalan ATP depoları uzun süren iskeminin ardından oluşturulan reperfüzyon sonrası organ canlılığını sürdürmek için yeterli miktarda doldurulamamaktadır.<sup>3</sup> Bu durum ise reaktif oksijen türevlerinin (ROS) prekürsörü hipoksantin hücre içi birikimini artırmaktadır. İskemi sonrasında o bölgedeki kan akımının yeniden sağlanması (reperfüzyon) ve hücre içine moleküler oksijenin yeniden sunulması ile birlikte ROS türevleri hızla oluşmaktadır. İskemi aynı zamanda endotel hücrelerinde bazı proinflamatuvar gen ürünlerinin (lökosit adhezyon molekülü, sitokinler vb.) ve biyoaktif bileşiklerin (endotelin, tromboksan A<sub>2</sub>, vb. ) sentezini artırırken, bazı koruyucu gen ürünlerinin [endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS), siklooksijenaz-2 (COX-2) ve bu enzimlerin ürünlerinin (nitrik oksit (NO), prostasiklin] sentezini baskılamaktadır. Geri dönüşümsüz hücre hasarını önleyebilmek için organa/dokuya yeniden kan akımının sağlanması gerekmektedir. Uzun süren iskeminin sonucunda hücrelerin bütünlüğü bozulur hatta hücre ölüm meydana gelir.<sup>4, 7, 13</sup>

Doku kanlanmasının ilaçlarla ya da mekanik müdahalelerle yeniden sağlanmasına reperfüzyon denir. Doku nekrozunu önlenmesi açısından iskemik bir dokunun yeniden kanlandırılması önemli olmasına rağmen, iskemik dokuda kan akımının yeniden sağlanması ile reperfüzyon hasarı ortaya çıkmaktadır. SOR, bu İRH'dan sorumlu tutulmaktadır. İskemik dokunun tekrar kanlanmaya başlaması durumunda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile SOR türevleri hızla oluşması dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar. Bu olaya reperfüzyona bağlı doku hasarı denir.<sup>14, 15</sup>

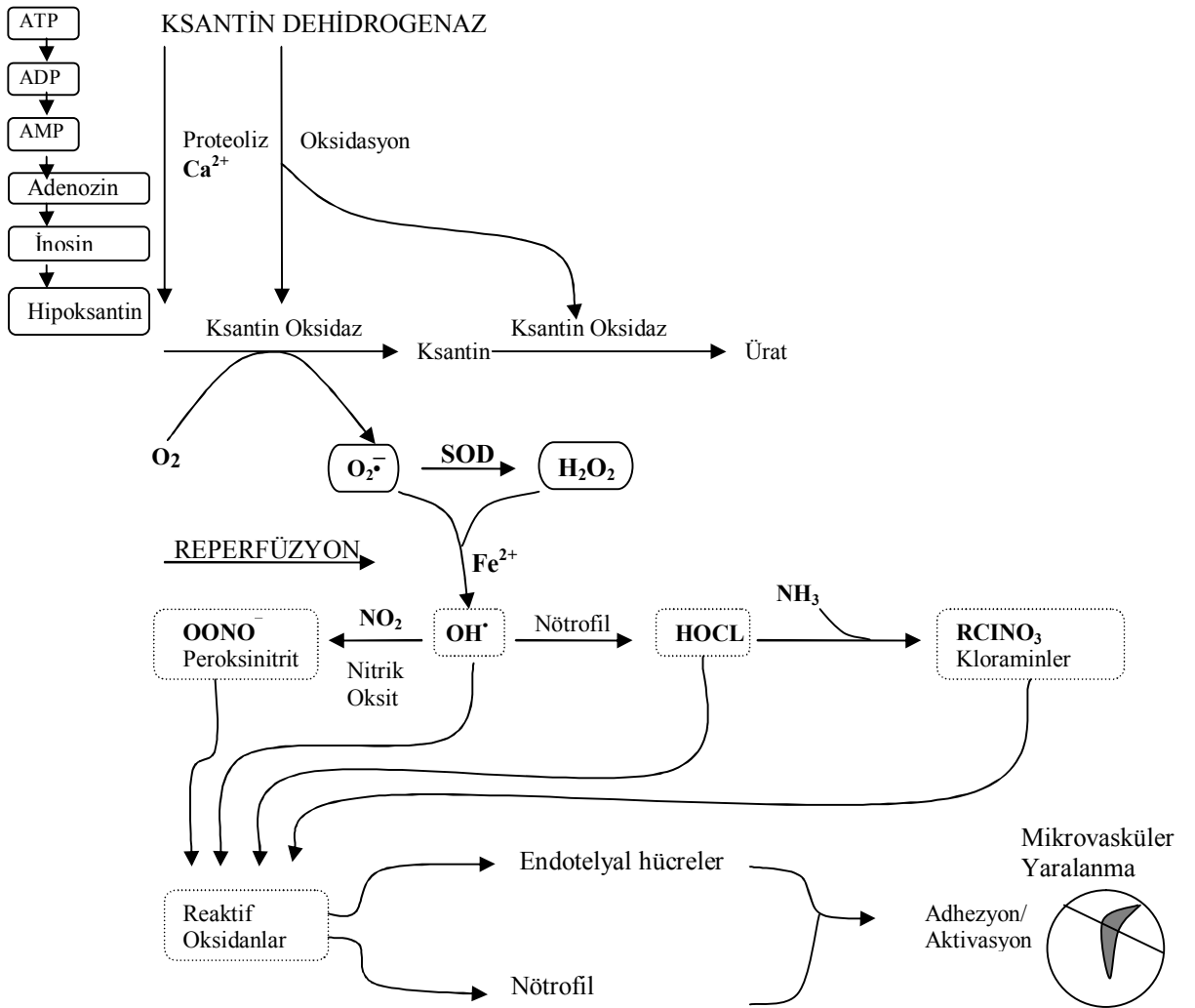
### 2.1.1 İskemi Reperfüzyon Hasarının Mekanizması

İskeminin ardından reperfüzyon sonrası dokulara oksijenin ulaşması ile serbest oksijen radikallerinin oluşması İRH'nın temel mekanizmadır. Bu SOR, hasarlanmış hücre membranındaki yağ asit radikalleri ile etkileşerek lipid peroksidasyon reaksiyonunu oluşturur ve MDA seviyeleri artar.<sup>16</sup> Bununla birlikte nötrofil ve makrofaj aktivasyonuna sekonder olarak IL-8, endojen TNF- $\alpha$ , elastaz, a sub I ve antitripsin seviyelerinde artış görülür. Erken reperfüzyon hasarı makrofajlardan proinflamatuvar sitokinlerin salınımını tetiklemektedir. TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-12, IL-18, IFN- $\gamma$  gibi salınan bu sitokinler ise geç dönemde nötrofil ve T-lenfosit aktivasyonuna yol açmaktadır. Sonuçta majör organlarda mikrovasküler endotel hasarına bağlı geçirgenlik artışı, trombosit agregasyonu ve nekroz alanları oluşmaktadır.<sup>14,17,18</sup>

Vasküler homeostazın temeli olan vital ve dinamik yapıyı kan damarlarının iç yüzeyini döşeyen endotel hücreleri oluşturur. Bu hücreler hipoksi (iskemi) ve reoksijenizasyonun (reperfüzyon) zararlı etkilerine karşı duyarlıdır. Uzamış hipoksinin hücre membran potansiyelini değiştirdiği, hücre içi volumü arttırdığı, iyonların dağılımını bozduğu, membran akışkanlığını azalttığı ve endotel hücrelerinin hücre iskeleti organizasyonunu bozduğu bilinmektedir. Bu değişikliklere belirli biyoaktif ajanların üretiminde azalma (prostasiklin, NO vb.), enerji depolarının tükenmesi ve diğer ajanların üretiminde hızlanma (endotelin, tromboksan A<sub>2</sub>, vb.) eşlik etmektedir.<sup>10</sup> Hipoksinin ilk zarar verdiği yer hücrenin aerobik solunumudur. Hipoksi, mitokondriyumdaki oksidatif fosforilasyonun engellenmesi ile Adenozin trifosfat (ATP) oluşumunu azaltıp, hatta durdurarak, hücre zarında aktif sodyum pompasının yetersizliğine sebep olur ve bu da hücre içi sodyum birikimine ve hücreden potasyum atılmasına neden olur. Hücre içinde solid materyalin birikimine izoozmotik su birikimi eşlik ederek akut hücresel şişmeye neden olur. Hücresel ATP azalması Adenozin monofosfat (AMP) artımı ile birlikte. Bu sebeple fosfofruktokinaz enzimini uyarır ve anaerobik glikolizi artırarak, glikojenden ATP oluşumunu sağlar. Hücre içi enerji kaynakları bu sayede korunur. Glikoliz laktik asit ve fosfat türevlerinden hidroliz sonucu oluşan inorganik fosfat birikimi hücre içi pH'yı düşürür. Bunu hücre içerisindeki granüllü endoplazmik retikulumun ribozomlardan ayrılması takip eder. Eğer hipoksi devam ederse zar geçirgenliği artarak, hücre yüzeyinde tomurcuklanma oluşur. Sitoplazmada ya da dışında organel zarları gibi plazmadan köken alan konsantrik lamina (myelin şekiller) görülür. Endoplazmik retikulum genişlemiştir ve tüm hücre

belirgin olarak şişmiştir. Bu bozuklukların tümü oksijen verilmesiyle geri dönüşümlüdür, fakat iskemi sürerse geri dönüşümsüz zedelenme oluşur.<sup>14, 19</sup>

İskemide ATP; ADP, AMP, inozin ve hipoksantine yıkılır. Normalde hipoksantin ksantin oksidaz (KO) ile ksantin ve ürik aside okside olur. Bu birikim hipoksantin oksijenizasyonu için substrat fazlalığına neden olmaktadır. Ani ve fazla miktarda O<sub>2</sub> sağlandığından reperfüzyonda, hipoksantin ksantine oksidasyonu, O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikallerinin ortaya çıkmasına neden olur.<sup>5, 20</sup>



Şekil 1: Ksantin oksidaz sisteminin radikal oluşturma mekanizması<sup>1, 2</sup>

### 2.1.2 İskemik Akut Böbrek Yetmezliği

Renal arter tıkanıklığı, şok ve organ transplantasyon sırasında böbrek iskemisi, böbrek hücre ölümü, böbrek yetmezliği ve greft reddinin sık bir nedenidir. Hasarın derecesi iskemik hasarın süresine bağlıdır. İskemik yapılan hücreler, sonunda hasara yol

açan geniş biyokimyasal, yapısal ve fonksiyonel değişiklikler gösterir. Böbreğin geçici iskemisi doku hasarının farklı örneklerine yol açar.<sup>7</sup>

Morfolojik çalışmalar, iskeminin proksimal tübüllerin distal segmentlerini (S<sub>3</sub>) irreverzibl olarak hasara uğrattığını bununla birlikte kısa süreli (<30 dk) iskemiden sonra daha fazla proksimal segmentler reverzibl hasardan muzdarip olduğunu göstermiştir. S<sub>3</sub> segmenti hücre ölümüne (nekroza) uğrar ve glomerular filtrasyon hızında (GFR) düşüşün temeli olduğu kabul edilen tübül lümenine dökülür.<sup>21</sup> Bu kıvrımlı segmentlerde aşırı hasar oluşturan iskeminin uzun dönemlerinde (45-90 dk'dan daha uzun) S<sub>1</sub> ve S<sub>2</sub> bölgelerinde benzer bir hasar paterni görülebilir. Distal tubuller proksimal tübüllerden daha az duyarlıdır. Proksimal tübüllerin (S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub> vs. S<sub>3</sub>) ve distal tübüllerin hipoksik hasara bu ayrımsal duyarlılığı bu hücre tiplerindeki prooksidan ve antioksidan hücresel savunma sisteminin ayrımsal başlama/kaybına bağlı olabilir. Böbrek tübüler hücrelerinin İRH sonucu olarak nekroz ve apoptozisi içerdiği bilinmektedir. Apoptotik hücre sinyal transdüksiyon yan yolunu regüle eden ilaçların tanımlanması terapötikler için İRH'ya karşı imkanlar sağlayabilir.<sup>6,22</sup>

İskemik ABY, hipoperfüzyonun renal parankimal hücrelerde ve özellikle de tübüler hücrelerde harabiyet oluşturması, renal hücrelerin onarılması ve rejenerasyonunu gerektiğinden dolayı renal perfüzyon normale getirilirse bile olayın düzelmesinin 1-2 haftalık bir süre periyodunun gerekmesinden dolayı prerenal ABY'den farklılık göstermektedir. İskemik ABY ileri formlarında bilateral renal kortikal nekroza yol açmasından dolayı, geri dönüşümsüz böbrek yetmezliğine yol açabilmektedir. İskemik ABY en sık olarak majör kardiyovasküler cerrahi uygulanan, şiddetli travma, kanama, sepsis ve böbrek transplantasyon yapılan hastalarda gelişmektedir.<sup>23</sup>

Preglomerüler vazokonstriksiyon GFR'nin azalmasındaki en önemli sebep olarak gözükmektedir. Kalp debisinin azalması, hipovolemi ve sistemik vazodilatasyon baroreseptörleri aktive eder. Nörohormonal cevabın uyarılması ile renin anjiyotensin aldosteron sistemi (RAS) aktive olur. Sempatik sinir sistemi de aktive olur ve vazopresin salgılanması artar. Aferent ve eferent arteriyollerde vasküler rezistans artar. Glomerüler plazma akımı % 30-50 oranında azalır. Katekolaminlerin, anjiyotensin II'nin (AT-II) ve endotelinin seviyeleri artar. Bunun sonucunda vazokonstriksiyon gelişir.<sup>6,24</sup>

Akut böbrek yetmezliğinin başlangıcındaki iskemik olay düzelse bile kan akımı bozuklukları Akut tübüler nekroz (ATN) geliştikten sonra da devam etmektedir. Reperfüzyon sırasında kan akımında % 40-50 oranında azalma devam eder. Gelişen



interstisyel ödem kan akımını, medulladaki damarlara bası uygulayarak daha da bozabilmektedir. Bu olayları takiben lökosit adhezyonu ve infiltrasyonu ile vazokonstriksiyon ve lokal kan akımındaki azalma (konjesyon) bir kısır döngü halinde devam eder. İskemik böbrekte gelişen çeşitli tübüler hasarlar da ATN gelişiminde ve ATN' nin sürmesinde rol oynamaktadır. Tübüler hücrelerde izlenen bu değişiklikler proksimal tübül hücrelerinin fırçamsı kenarlarının ve hücrelerin bazal membrandan koparak tübül lümenine dökülmesine ve tübül lümeninde tıkanmaya sebep olur. Tübül tıkanması sonucu net transglomerüler kapiller basıncı azalır ve bunun sonucunda GFR de azalır.<sup>6</sup>

İskemik böbrek hasarında, renal perfüzyonun bozulması sonucu oluşan ve böbrek fonksiyonların bozulmasında temel patoloji olan tübüler hasarın yanı sıra, yeniden perfüzyon sağlandıktan sonra üretilen serbest radikaller de önemli bir yere sahiptir. Özellikle proksimal tübül hücrelerinin metabolik açıdan yoğun olmaları, ATN sırasında mitokondriyal hasar ve intrasitoplazmik kalsiyum artışı nedeniyle oksidatif moleküller fazla miktarlarda oluşur. Hücre hasarı sırasında oluşan süperoksitten yoğun miktarlarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşur. Hidrojen peroksit normalde su molekülüne çevrilebildiği halde hasarlı hücrelerde hidroksil radikallerine de dönüşebilir. Oluşan OH<sup>-</sup> gibi ROS lipid peroksidasyonuna sebep olarak, hücre proteinlerini okside ederek, plazma ve mitokondri membranını bozarak ve DNA'ya hasar vererek hücre zedelenmesine sebep olur.<sup>25</sup>

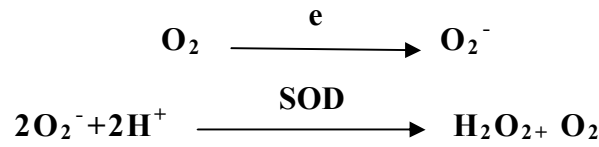
Önceki çalışmalarda böbrek dokusu veya idrarda artmış oksidan hasar ürünlerinin saptanması ve/veya serbest oksijen radikalleri inhibitörleri verilmesi ile koruyuculuğun deneysel olarak gösterilmesi ile serbest oksijen radikallerinin nefropati patogenezinde rolü olduğu gösterilmiştir.<sup>26</sup>

## **2.2 Serbest Radikaller**

Serbest radikal, eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküldür. Elektronlar atom veya molekülde genelde eşlenik olarak bulunmaları nedeniyle molekül stabildir ve reaktif değildir. Fakat, moleküle bir elektron ilavesi ya da bir elektron kaybı onu reaktif hale getirir. Organizmada serbest radikal atakları sürekli olarak olmaktadır. Aerobik organizmanın yaşamı için gerekli şart olan oksijen atmosferin % 21'ini teşkil etmektedir. Fizyolojik şartlarda ve dış etkenlere karşı organizmanın savunmasında da belirli oranda oluşan serbest radikallerin, içsel mekanizmalarla organizmaya olabilecek zararlı etkileri önlenir. Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikallerin endojen

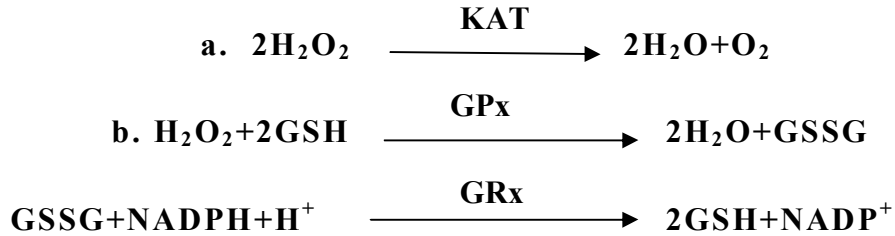
kaynakları oksijen, uyarılmış nötrofil, mitokondriyal elektron transport sistemi, peroksizom, NO, endoplazmik retikulum ve plazma membranı olarak sayılabilir. Mitokondrilerde ATP şeklinde enerji oluşumunda solunan oksijenin % 95' inden fazlası kullanılır. Yaklaşık % 5'i de son yörüngelerinde ortaklanmamış elektron içerir ve bu özellikleri nedeniyle de toksik serbest radikallere dönüşmektedir.<sup>9,27</sup>

Oksijen molekülüne bir elektron ilavesi ile oluşan  $O_2^-$ , oksidan hasar oluşumu ile birlikte artan ve serbest radikal hasarına karşı koruyucu antioksidan bir enzim olan SOD aracılığı ile  $H_2O_2$ 'e indirgenir.  $H_2O_2$  tek başına radikal değildir, çünkü eşlenmemiş elektron içermez.

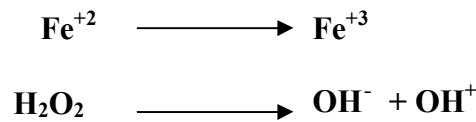


$H_2O_2$ 'in hücre içinde metabolizması birkaç şekilde olabilir.

1-  $H_2O_2$ , katalaz (KAT) veya GPx tarafından toksik olmayan ürünlere dönüşür.<sup>28</sup>



2-  $H_2O_2$  geçiş metallerinin varlığında toksik  $OH^-$  radikaline dönüşür.<sup>21</sup>



#### Fenton reaksiyonu

Oldukça reaktif ve toksik bir radikal olan  $OH^-$  radikali; ilk karşılaştığı molekül ile  $10^{-6}$  sn içinde  $14 \text{ \AA}$  mesafesinde reaksiyona girer. DNA, protein, karbonhidrat ve lipitler gibi makromoleküllerle reaksiyona girerek bu yapılarda oksidatif hasara neden olan  $OH^-$  radikali, bu etkiyi büyük molekül yapısı ve elektronegativitesi nedeni ile

yapar. Makromoleküller hücrelerde kısıtlı miktarlarda bulduklarından bu yapılarda oluşan hasar oldukça önemlidir. Bu nedenle radikalın süpürülmesinden daha etkili olan durum OH<sup>-</sup> radikalının oluşumunun önlenmesidir.<sup>5</sup>

### 2.2.1 Singlet Oksijen

Singlet oksijen, ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan bir reaktif oksijen molekülüdür. Singlet oksijen hem serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana gelir hem de serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına sebep olur. Singlet oksijen, RNA, DNA, proteinler, lipitler ve sterolleri kapsayan çok sayıda biyolojik hedeflerle reaksiyona girerek hücrede zararlı etkilere sebep olan reaktif oksijen radikalidir.<sup>29</sup>

### 2.2.2 Serbest Radikallerin Biyolojik Hedefleri

Serbest radikaller hücre ve dokularda birçok zarara yol açmaktadır. Bu zararlar şöyle sıralanabilir:

- a) Nükleotid yapılı koenzimlerin yıkımı,
- b) DNA'nın tahrip olması,
- c) Steroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi,
- d) Lipid peroksidasyonu zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi,
- e) Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler,
- f) Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması,
- g) Protein ve lipitlerle kovalan bağlantılar yapması,
- h) Mukopolisakkaritlerin yıkımı,
- i) Proteinlerin tahrip olması ve protein döngüsünün artması,
- j) Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/disülfid oranının değişmesi,
- k) Kollojen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterosklerotik değişikliklerin oluşmasıdır.<sup>14</sup>

#### 2.2.2.1 Proteinlere Etkisi

Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bunun nedeni doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallere reaktivitesinin yüksek olmasıdır. Reaktiviteleri için yukarıdaki aminoasitlere bağımlı olan glutatyon redüktaz ve

gliseraldehid 3 fosfat dehidrogenaz gibi enzimler, serbest radikallerden kolaylıkla etkilenerek inhibe edilirler.

Serbest radikal harabiyetinden proteinlerin ne derece etkileneceği aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Protein harabiyetinin boyutları, proteinin hücresel lokalizasyonuna ve radikalın toksisite gücüne göre değişebilir.<sup>27</sup>

#### 2.2.2.2 Karbonhidratlara Etkisi

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, peroksitler ve okzoaldehitler özellikle monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu meydana gelir. Antimitotik etkisini bir okzoaldehit olan glikozil, DNA ve RNA arasında çapraz bağ oluşturma özelliğinden dolayı gösterir. Bununla birlikte süperoksit ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin invitro olarak hiyalüronik asidi parçaladıkları gösterilmiştir.<sup>9, 14</sup>

#### 2.2.2.3 Nükleik asit ve DNA'ya etkileri

İyonlar, serbest radikaller ve aktif moleküller, radyasyonla hücre içinde enerji depolanması sonucu meydana gelirler. DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon ve ölüme yol açan serbest radikaller iyonize edici radyasyonla oluşurlardır. Sitotoksiste; büyük oranda ya nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine ya da DNA' daki diğer bozukluklara bağlıdır.<sup>30</sup>

#### 2.2.2.4 Membran Lipidlerine Etkileri (Lipid Peroksidasyonu)

Lipid peroksidasyonunda, lipit hidroperoksitlerini oluşturmak için hücre membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asidi (PAYA) ile oksijen radikali reaksiyona girer. Lipidlerin doymamışlık derecesi ile orantılı olarak peroksidasyon şiddeti artar. PAYA'ların oksitlenmesi ile yağ asidi radikali oluşur. Buna oksijenin eklenmesi ile lipid peroksi radikali oluşur. Peroksi radikali zincir reaksiyonunun taşıyıcısıdır. E vitamini ve/veya erdostein gibi bir antioksidan tarafından önlenmezse komşu PAYA moleküllerini okside eder.<sup>9</sup>

Lipid peroksil radikali, lipid radikalının moleküler oksijen ile etkileşmesi sonucu meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksidlerine dönüşürlerken, membran yapısındaki diğer poliansature yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarlar. Lipid peroksitlerinin yıkımından oluşan ürünlerden biri malondialdehittir (MDA). Lipid peroksidasyonu membran yapısına direkt olarak ve reaktif aldehidler üreterek diğer

hücre bileşenlerine indirek olarak zarar verir. Mikroviskozitesi ve membran permeabilitesi ciddi şekilde etkilenir. Membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna peroksidasyonla oluşan MDA sebep olur. Bu da iyon transportu, enzim aktivitesi, deformasyon ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir.<sup>27,30</sup>

Artan serbest radikallerin plazma ve organel membranları üzerinde başlattıkları lipid peroksidasyonu reperfüzyon hasarının en önemli nedenidir. Lipid peroksidasyonu yeni serbest radikallerin oluşumuna neden olur. Ortamda doymamış yağ asitleri, oksijen ve metal katalizörler bulunduğu sürece logaritmik olarak lipid peroksidasyonu artar. Reperfüzyon dönemi bu sebeble, lipid peroksidasyonu için gerekli koşulları sağlanması bakımından çok uygundur. Lipid radikalleri veya MDA gibi peroksidasyon ürünleri aracılığı ile lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda yaygın hale geldiği zaman hücresel yapı ve fonksiyon hasarları ortaya çıkmaktadır. Yapısal hasarın derecesine göre, plazma membranında akışkanlığın azalması, membran geçirgenliğinin değişmesi, membran potansiyeli azalması, membrana bağlı enzimlerin aktivitesinde azalma gözlenir. Lizozomal ve mitokondrial membranları ilgilendiren ileri derecede lipid peroksidasyonu ile organel içeriğinin hücre içine salınması sonucunda proteoliz hızlanır ve doku hasarının derecesi artar. Membran geçirgenliğinin bozulması ile protein sentezi için çok önemli olan potasyum ve magnezyum iyonlarının konsantrasyonları değişir ve buna bağlı olarak protein sentezinde inhibisyon gerçekleşir.<sup>16,31</sup>

### **2.3 Antioksidan Savunma Mekanizmaları**

Organizmanın prooksidan-antioksidan dengesi sağlıklı bir yaşam sürdürebilmek için çok önemlidir. SOR'un oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere organizmayı koruyan "Antioksidan savunma sistemi" dört yolla etki göstermektedir:

1. Süpürücü etki; SOR'u etkileyerek onları tutarak yok edilmesidir. Antioksidan enzimler, küçük moleküller bu yolla etki gösterirler.

2. İnaktif şekle dönüştürücü etki; SOR ile etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltılmasıdır. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptir.

3. Zincir kırıcı etki; serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller bu tarz bir etkiye sahiptir.

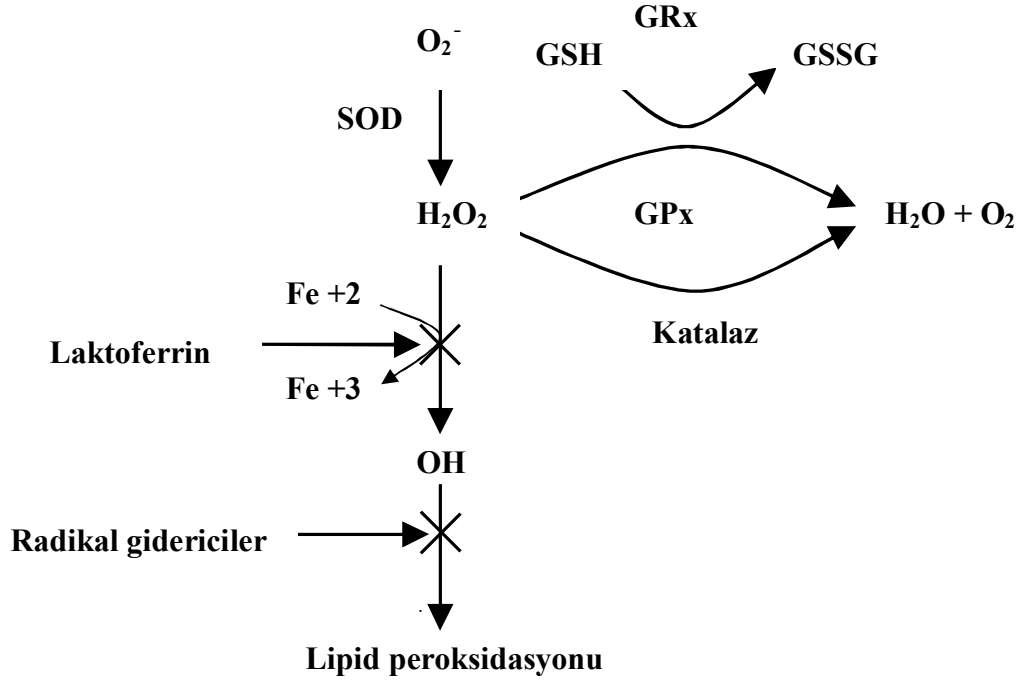
4. Onarıcı etki; serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması şeklindedir.

Eksojen ya da endojen kaynaklı olan antioksidanların tanımlanmasında ve etkinliklerinin ortaya konmasında İ/R hasarı modelleri önemli katkı sağlamıştır. Çeşitli İ/R modellerinde antioksidan özelliği öne sürülmüş pek çok madde test edilerek değerlendirilmiştir.<sup>5</sup>

### **2.3.1 Enzimatik Antioksidanlar**

#### **2.3.1.1 Süperoksit Dismutaz (SOD)**

Süperoksit dismutaz (SOD)'lar  $O_2^-$ 'yi  $H_2O_2$ 'ye çeviren dismutasyon reaksiyonunda etkili metalloprotein yapısında enzimlerdir. SOD, mantarlar, bitkiler ve hayvanları da içeren bütün ökaryotik hücrelerde bulunur. İnsanlarda 3 tip SOD saflaştırıldı; Cu/Zn-SOD, Mn-SOD ve ekstrasellüler SOD (EC-SOD). Cu/Zn-SOD sitozolde bol miktarda bulunur ve nükleusta da bulunduğu gösterilmiştir. Mn-SOD mitokondriyal matrikste bulunur. Her subunitin 4 subünitesi bulunur. EC-SOD plazmada bulunur ve düşük aktiviteli olduğu ileri sürülmüştür. SOD, bu dismutasyon reaksiyonunda hem redüktan hem de oksidan olarak hareket eder. SOD, oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı katalaz ve glutatyon enzim sistemleriyle birlikte çalışan bir savunma mekanizmasıdır (Şekil-2). Bu şekilde oluşan  $H_2O_2$ , GPx ya da katalaz enzimleri tarafından su ve oksijene indirgenmektedir. Peroksit radikalinin dismutasyonu ile meydana gelen  $H_2O_2$  doku için biyolojik avantaj sağlar.<sup>20</sup>



Şekil 2: Antioksidan savunma mekanizması

Genel olarak SOD enzim sistemi, serbest radikal hasarına karşı koruyucu bir sistemdir. Bu enzim, hücrede değişik kompartmanlarda yer almaktadır. Sitozolik enzim, her biri içinde bir ekivalan çinko ve bakır taşıyan birbirine benzer iki alt üniteden meydana gelir. Fakat mitokondriyal enzim, bakterilerdekine benzer şekilde sadece manganez ( $Mn^{+2}$ ) içerir. Bütün temel aerobik dokularda dismutaz bulunmaktadır.<sup>32</sup>

### 2.3.1.2 Katalaz

Katalaz; 4 tane hem grubu içeren hemoproteinidir. Pek çok hücrede bulunur. Görevi  $H_2O_2$ 'yi oksijen ve suya indirgemektir. Peroksidaz aktivitesine sahip olan bu enzim  $H_2O_2$ 'yi elektron verici bir substrat olarak, diğerinide oksidan olarak kullanılır.<sup>9</sup>



### 2.3.1.3 Nitrik oksit (NO)

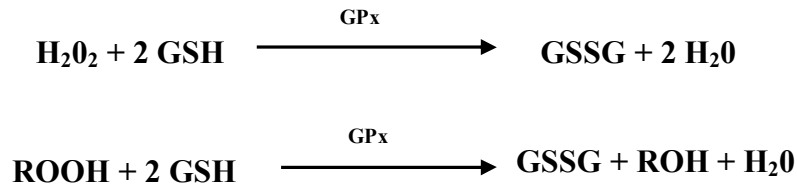
Nitrik oksit; L-arginin amino asidinden sentezlenir. Endotel kökenli gevşeme faktörü (EDRF)'nün NO olabileceği iddia edilmiştir. EDRF, cGMP bağımlı bir şekilde gevşeme oluşturur.<sup>33</sup>

Nitrik oksitin vazodilatör, platelet adhezyonu ve agregasyonu, sınırlı nötrofil aktivasyonu etkileri vardır. Süperoksidin düşük hücre düzeylerinde etkilidir. Endotelyal yüzey ile lökositler arasındaki adezyonu azaltır. Süperoksid düzeyi İ/R sonrasında artar NO'nun hem proapoptotik hem de antiapoptotik olduğu bildirilmiştir. Yüksek konsantrasyonunda cGMP'den bağımsız mekanizma ile indüklenebilir, düşük konsantrasyonunda ise NO'dan cGMP bağımlı mekanizma ile sitoprotektif endotelyal NO sentaz (eNOS), indüklenebilir NO sentaz (iNOS), nöronal NO sentaz (nNOS) meydana gelir. Güçlü bir oksidan ajan olan peroksinitrit (OONO<sup>-</sup>), NO'nun O<sub>2</sub><sup>-</sup> ile reaksiyona girmesi ile oluşur. Bu ajan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den 2000 kat daha güçlü bir oksidandır.<sup>34</sup> OONO<sup>-</sup>, nötrofil gibi insan inflamatuvar hücrelerinde apoptozise yol açar. NO molekülü inflamatuvar bozukluklarda ve nörodejeneratif durumlarda artar, GİS motor bozukluklarda azalır. NO, fizyolojik ve patolojik süreçlerin önemli bir biyolojik habercisidir. L-argininden NO sentaz yardımıyla NADPH ve O<sub>2</sub>' ye bağlı süreçlerde meydana gelir.<sup>35</sup>

#### 2.3.1.4 Glutasyon peroksidaz (GPx) ve glutasyon redüktaz (GRx)

Glutasyon peroksidaz eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. Gerek LOOH'ları gerekse H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi metabolize etmektedir. Selenyum bağımlı ve selenyum bağımsız iki farklı tipi vardır. Selenyum bağımsız tipi sadece LOOH'ları metabolize ederken, selenyum bağımlı tipi ise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve LOOH'ları metabolize eder. Bu reaksiyonlar esnasında GSH hidrojen verici olarak görev yaptığından H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve LOOH indirgenirken GSH ise okside şekline (GSSG) dönüşür. GSSG ise NADPH bağımlı GRx tarafından tekrar GSH'a indirgenir.<sup>5</sup>

GPx aşağıda belirtilen reaksiyon basamaklarında rol almaktadır:



Okside glutasyon hücreyi antioksidanlara karşı koruyamaz. Okside glutasyon, tiol içeren proteinlerin konformasyonu ve aktivitesi üzerine zararlı etkili prooksidan bir madde olduğu için bu okside formun ileride kullanılmak üzere tekrar, deposu sınırlı olan GSH'a dönüştürülmesi gerekmektedir. Hücre, elektron kaynağı olarak NADPH kullanan glutasyon redüktazın katalizlediği bir reaksiyon ile indirgenmiş glutasyonu

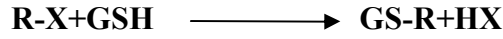


tekrar oluşturur. NADPH, hidrojen peroksidin indirgenmesinde indirekt olarak elektronları sağlar. Oluşan NADP<sup>+</sup> ise Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzimi yardımıyla NADPH'ya dönüştürülür.<sup>36</sup>



#### 2.3.1.5 Glutasyon S-Transferaz (GST)

Sitozolde bulunan GST dimerik yapıdadır. Yabancı maddelerin biyotransformasyonunda rolleri olup, çeşitli eksojen ve endojen bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu katalize eder.<sup>9</sup>



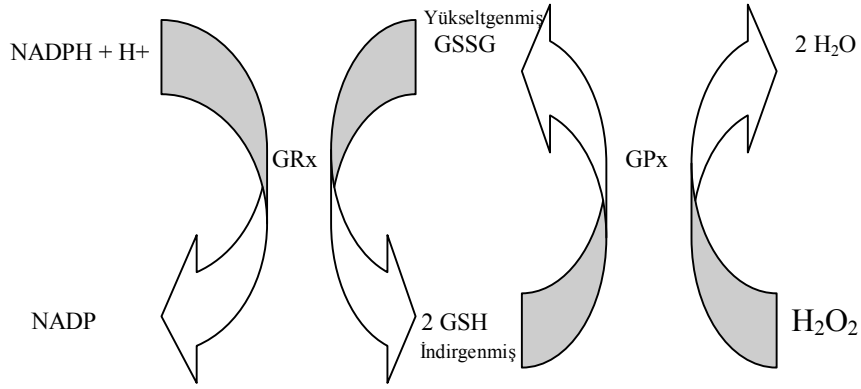
#### 2.3.1.6 Mitokondriyal sitokrom oksidaz

Serbest oksijen radikalini detoksifiye eden mitokondriyal sitokrom oksidaz, solunum zincirinin son enzimidir. Fizyolojik şartlarda bu reaksiyon sürekli olan normal bir reaksiyondur, bu şekilde yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi (ATP) sağlanır. Fakat çoğu zaman O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikal üretimi mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve bu yüzden diğer antioksidan enzimler devreye girerek zararlı etkilerine engel olurlar.<sup>9</sup>

### 2.3.2 Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar

#### 2.3.2.1 Glutasyon

Glutasyon, GPx ve GRx gibi ksenobiyotiklerin, karsinojenlerin, serbest radikallerin ve lipopolisakkaridler gibi endojen ve eksojen zararlı bileşiklerin detoksifikasyonunda önemli rol oynayan çok önemli bir antioksidan olarak bilinmektedir. GSH'nin ROO<sup>-</sup> ve disülfidlerle GPx enzimi varlığında reaksiyonu sonucu GSSG oluşmaktadır. GSSG konsantrasyonunda artış, oksidatif stresin bir göstergesi olmaktadır. GSSG, tiol içeren proteinlerin konformasyonu ve aktivitesi üzerine zararlı etkileri olan prooksidan bir madde olduğu için hızla redüklenmesi gerekmektedir. GRx enzimi NADPH varlığında GSSG'yi GSH'a redüklemektedir(Şekil 3).<sup>37</sup>



Şekil 3: GSH redoks döngüsü

Membrana bağlı transpeptidaza aktarılarak, hücre içi glutasyon taşınır.  $\gamma$ -glutamil sistein taşınımı hücrel sisteinin korunmasında oldukça önemlidir. GSH'ın membrana bağlı olan aminoasitlerin oluşumuna,  $\gamma$ -glutamil transpeptidaza taşınması yol açmaktadır. Hücrel GSH taşınımı, tiyol gruplarını ve  $\alpha$ -tokoferol gibi diğer membran bileşiklerini koruyarak hücre membranının oksidan hasara karşı korunmasını sağlamaktadır. Bununla birlikte serbest radikallerle direkt reaksiyonla, GPx'e ve GST'ye substrat olmasıyla bir antioksidan olarak davranmaktadır.<sup>12</sup>

### 2.3.2.2 C Vitamini

Bir karbonhidrat derivativesi olan askorbat suda eriyen bir vitamindir ve zincir kıran bir antioksidandır. C vitamini, E vitamininden daha yavaş olarak ROO<sup>-</sup> radikallerini ortadan kaldırabilir. Askorbik asit ve askorbat özellikle O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve OH<sup>-</sup> radikali ile reaksiyona girer. Askorbat hem antioksidan hem de preoksidan işlevi olan bir yapı olarak bilinir. Sonuçta; antioksidan işlev, askorbattan radikale elektron veya hidrojen taşınması ile gerçekleşir. Diğer taraftan özellikle H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve Fe<sup>+2</sup> varlığında redoks reaksiyonlarına katılan askorbat, mikrozomal lipit peroksidasyonunda preoksidan rol oynayabilir.<sup>38</sup>

E ve C vitaminleri gibi enzimatik olmayan antioksidanlar SOR bulunan yüksek enerjili elektronları yapılarına alarak SOR'un meydana getireceği oksidatif hasarın azaltılmasına katkıda bulunurlar. Organizmada O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikalleri enzimatik dismutasyonla temizlenirken, antioksidan olarak bilinen bileşikler de oksijen radikallerinin yok edilmesini sağlarlar. Bu kimyasal bileşikler arasında E, C vitaminleri ve selenyum (Se) önemli bir rol oynamaktadırlar.<sup>39</sup>

### 2.3.2.3 E Vitamini ( $\alpha$ -tokoferol)

E vitamini zincir kırıcı bir antioksidan olup, her bir E vitamini molekülü iki oksidasyon zincirini durdurabilir. Singlet oksijenin kuvvetli bir tutucusu olan E vitamini ayrıca  $\text{OH}^-$  radikali,  $\text{ROO}^-$  radikali ve  $\text{O}_2^-$  radikali ile direkt olarak reaksiyona girebilirler. Lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu serbest radikal temizleyicilerindedir. Okside olan E vitamini, parçalanmadan önce askorbik asit ve GSH tarafından  $\alpha$ -tokoferole geri çevrilebilir.<sup>27</sup>

### 2.3.2.4 Karoten

Serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek ve ortamdaki radikalleri toplayarak  $\beta$ -karoten ve retinol antioksidan aktivitesini gerçekleştirmektedir.<sup>40</sup>

### 2.3.2.5 Melatonin

Melatonin oksijen radikallerinden  $\text{O}_2$ ,  $\text{OH}^-$  radikali,  $\text{ROO}^-$  radikali ve  $\text{O}_2^-$  radikali üzerine etkilidir. Oksidatif hasardan nükleus DNA' sını, membran lipidlerini ve sitozolik proteinleri korur. Bununla beraber, NOS üzerine inhibitör etki yapar, antioksidan sisteme ait olan SOD, GPx, GRx ve G6PD'ı destekler.<sup>41</sup>

### 2.3.2.6 Ürat, Bilirubin, Albümin

Normal plazma konsantrasyonunda ürat,  $\text{OH}^-$  radikali,  $\text{ROO}^-$  radikalleri,  $\text{O}_2^-$  radikalini temizler. Fakat lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. Bilirubin,  $\text{OH}^-$  radikali,  $\text{ROO}^-$  radikalleri ve  $\text{O}_2^-$  radikali toplayıcısı olduğu gibi, lipid peroksidasyonunun zincir devam ettirici radikalini de etkisiz hale getirir. Albümin ise LOOH ve HOCl toplayıcısıdır.<sup>9</sup>

## 2.3.3 Eksojen Antioksidanlar

a-Enzim inhibitörleri: Pterin aldehit, oksipürinol, folik asit, allopürinol, tungsten, NADPH oksidaz inhibitörleri (kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antienflamatuar ilaçlar, adenozin, lokal anestetikler).

b-Nötrofil adhezyon inhibitörleri

c-Non-enzimatik serbest radikal toplayıcıları: dimetilsülfoksit, mannitol.

d-Demir-redoks döngüsü inhibitörleri: desferroksamin.

e-Gıda antioksidanları: Butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole, sodyum benzoat, propylgale, ethoxyquin.<sup>1</sup>

## 2.4 Hücre İçi Kalsiyum Artışı

İskemi-reperfüzyon hasarının gelişmesinde diğer önemli bir olay, kalsiyum konsantrasyonunun hücre içinde artışıdır. Hücre içi kalsiyum artışı, üç yoldan gerçekleşmektedir. Bunlar hücre dışından kalsiyum girişi, hücre içi kalsiyum depolarından kalsiyum salınması ve hücre içi kalsiyum düzeyini kontrol eden mekanizmalarının bozulması şeklindedir. İskemide hücre içinde serbest kalsiyum artışı ile birlikte başlıca; proteoliz, lipoliz, DNA hasarı, mitokondri elektron transport zincir hasarı görülmektedir.<sup>42, 43</sup>

Kontrol dışı  $Ca^{+2}$  girişi hücre ölümünün sonucu olabildiği gibi nedeni de olabilir. Stresli hücrelerde, blebleşme, ödem ve ilerleyici  $Ca^{+2}$  girişi meydana gelir. Yaşayabilir hücrelerde, plazma ve intrasellüler membranlar  $Ca^{+2}$ 'a geçirgen değildir.  $Ca^{+2}$ 'un çoğu Endoplazmik retikulumda (ER) depo edilir. ER'dan  $Ca^{+2}$  sitozole serbestleştiğinde  $Ca^{+2}$  bağımlı proteazların aktivasyonu ve/veya mitokondrial aşırı yüklenmeden dolayı hücre ölümü başlatılabilir. Artmış sitozolik  $Ca^{+2}$  konsantrasyonu, hücrenin kritik önemli bileşenlerini parçalayan fosfolipaz, ATP'az ve proteaz gibi bazı enzimlerin aktivasyonu ile sonuçlanır. Ayrıca, mitokondriyal fonksiyonların anahtar düzenleyicisidir ve ATP sentezini uyarmak için organeller içinde birçok seviyede etki eder. Mitokondriyal  $Ca^{+2}$  dengesinin birçok patolojide anahtar rol oynadığı tanımlanmıştır. Örneğin, mitokondriyal matriks  $Ca^{+2}$ 'u aşırı yükü, bazıları hücreler ve dokulara oldukça toksik ve yıkıcı olan ROS' ların aşırı üretimine neden olabilir. Diğer birçok zarar verici etkenler gibi, artmış sitozolik  $Ca^{+2}$ 'u apoptozis veya hücre ölümünü başlatabilir. Hücre ölümünün sonucu muhtemelen sitoplazmik  $Ca^{+2}$  konsantrasyonu tarafından belirlenir. Bununla birlikte düşük ve orta dereceli  $Ca^{+2}$  apoptozisi tetikler,  $Ca^{+2}$ 'un yüksek konsantrasyonları nekrozla ilişkilidir. Mitokondriyal metabolik durum,  $Ca^{+2}$  zehirlenmesine mitokondriyal hassasiyeti de etkileyebilir ve hücre ölümüne sebep olabilir.<sup>44</sup>

Geri dönüşümsüz hücre hasarına ve hücre ölümüne, hücre içinde biriken  $Ca^{+2}$  neden olur. Hücre içine  $Ca^{+2}$ 'un girmesi proteazları aktive ederek hücre membranını parçalar. Hücre yüzeyini balonlaştırarak hücre iskeletinin çökmesine aktive olan proteazlardan biri neden olur. "Kalpein" olarak tanımlanan ikinci sitozolik proteaz enzimi, kalsiyum ile aktive edilir ve ksantin dehidrogenaz'dan ksantin oksidaz oluşumunu indükler. Bununla birlikte, mitokondri ve hücre membranındaki fosfolipitler, fosfolipaz A<sub>1</sub> ve A<sub>2</sub>'yi aktive ederek parçalanır. Serbest yağ asitleri membran

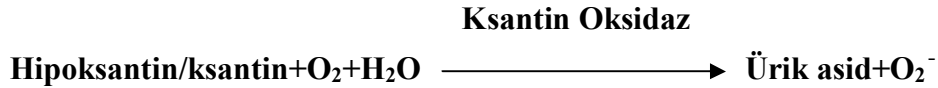
fosfolipidlerinin parçalanması sonucu oluşur. Araşidonik asit, serbest yağ asitlerinin en önemlisidir. Araşidonik asit, prostaglandinlere, serbest radikallere ve lökotrienlere metabolize olabilir. IRH'ın oluşmasında bu maddeler, nötrofillerin endotelyuma adhezyonunu arttırarak önemli rol oynarlar.<sup>45,46</sup>

## 2.5 Ksantin Oksidaz sistemi

Ksantin dehidrogenaz tüm dokularda yaygın şekilde bulunmaktadır. Ksantin oksidaz (KO) sistemi endotel dokularda fizyolojik koşullarda NAD'ten ürik aside elektron vererek hipoksantin ksantin oksidasyonunu katalize eder.<sup>20</sup>



Oksidasyondan dehidrogenasyona dönüşüm endotoksin ilişkili doku hasarı, inflamasyon ya da iskemiye takip eden reperfüzyon benzeri patolojik koşullarda çoğunlukla oluşur. Dehidrogenazdan farklı olarak oksidatif formu  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve  $\text{O}_2$  formasyonunun sonucu olarak hipoksantin- ksantin reaksiyonu tek değerlikli reaksiyonu katalize edebilir.<sup>20</sup>



Ksantin oksidoredüktaz (KORs)' lar en fazla karaciğer ve bağırsaklarda olmak üzere insan vücudunda yaygın olarak bulunmaktadır. Bunların ekspresyonu ve aktivitesi hem transkripsiyonel hem de posttranslasyonel olarak regüle edilmektedir. Örneğin; proinflamatuvar uyarı (Örneğin: TNF  $\alpha$ , IL-1 ve IL-6) ve hipoksi önemli derecede KO transkripsiyonuna neden olur. Bundan başka kardiyovasküler hastalığı (Örneğin; koroner arter hastalığı, kalp yetmezliği ve hipertansiyon) olan hastalardaki değişiklik anlamlı derecede yüksek KO seviyesi ortaya çıkarır. İlginç şekilde bunlar endotel hücrelerin yüzeyindeki glikozaminoglikanlara bağlanarak dolaşan KO formlarıdır ve bağlanırken artmış stabilite ve oksidan üretici kapasite gerektirir. Kronik kalp yetmezliği olan hastalarda endotel bağımlı aktivite artışı % 200 den fazla olur. Sonuç olarak yüksek miktarda  $\text{O}_2^-$  radikali sitotoksik  $\text{ONOO}^-$  formundan endotel hücrelerden NO oluşumuyla hızlıca reaksiyona girecek şekilde üretilir.  $\text{ONOO}^-$  formasyonu ve endotel hücre hasarı sonucunda oluşan aşağı sinyal yollarının aktivasyonu kanıt olarak

gösterilir. Bütün patofizyolojik koşullarda KO inhibitörlerinin kullanımını uygun bir hedeflenmiş antioksidan yaklaşım olmaktadır.<sup>2</sup>

## 2.6 Lökosit (Nötrofil, lenfosit, monosit) Aktivasyonu

İskemi ve reperfüzyon hasarı gelişiminde dokularda lökosit toplanması temeldir. Lökosit yüzeyindeki adhezyon molekülleri kan akımından göçü yönlendirerek sonunda yüksek derecede koordinasyonlu sıralı şekilde işlemi başlatırlar. Monositler, nötrofiller, eozinofiller, lenfositler ve diğer predominant lenfositler inflamasyon uyarısının doğasında vardır ve özellikle lökosit sınıfının kontrol aşamasında dokularda spesifik moleküler uyarının işaretidir. Aktive lökosit veya endotel hücrelerinde adhezyon yapıcı glikoprotein yapımını arttırdığı bilinmektedir.<sup>47</sup>

İskemik dokuda serbest radikallerde dahil olmak üzere diğer bazı kemoatraktanların etkisi ile göç eden nötrofiller, aşağıdaki mekanizmalar ile reperfüzyonda doku hasarının ilerlemesine yol açmaktadırlar:

- Salgıladıkları enzimler (Proteazlar, elastaz, jelatinaz v.b) ile endotel hücre parçalanmasına neden olurlar.
- Nötrofillerin kapillerlerdeki agregasyonları ile kan akımının geri dönmesine engel olan kapiller tıkaçların oluştuğu bildirilmiştir.
- Salgıladıkları vazokonstrüktör ajanlar ve trombosit aktive edici faktör ile daha büyük damarlarda da daralmaya neden olmaktadır.

Reperfüzyon döneminin en ağır mikrovasküler patolojisi olan kan akışının yeniden durması fenomenine (No reflow phenomen) aktive olmuş nötrofillerin yol açtığı gösterilmiştir.<sup>47</sup>

## 2.7 Komplemanın Rolü

IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinler reperfüzyon sonrası dolaşımda gözlenir. Antagonistler bu ajanlara karşı kullanılarak, TNF- $\alpha$ 'nın ve IL-1'in vasküler yaralanmaya katkıda buldukları ve endotel adhezyon moleküllerini arttırdıkları gösterilmiştir.<sup>48,49</sup>

Sitokinler, inflamasyona cevap olarak başlıca nötrofil, makrofaj, endotel hücrelerinden sentez edilen proteinler olup, fonksiyonlarına göre proinflamatuvar ve inflamatuvar olarak 2 gruba ayrılırlar. IL -1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinler proinflamatuvar sitokinler olarak bilinir ve inflamatuvar değişikliklerin oluşmasında, patojenin eliminasyonunu sağlayan hızlı bağışıklık cevabın ortaya konmasında rol

alırlar. İ/R kompleman sistemini aktive eder. Kompleman aktivasyonu sonucu oluşan, proinflamatuvar komponentler bir yandan lökositleri aktive ederken, diğer yandan TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6 oluşumunu uyararak inflamatuvar cevabı güçlendirir.<sup>49</sup> Buna karşılık IL-4, IL-10 ve IL-13 ise inflamatuvar sitokinlerden olup, immün yanıtı ve bazı sitokinlerin sentezini baskırlar. TNF'nin  $\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere 2 farklı tipi vardır. TNF- $\alpha$ ; aktif makrofajlar, lenfositler, fibroblastlar ve endotel hücreleri tarafından sentez edilir. Vasküler trombüs gelişimine, tümör nekrozuna, inflamasyona, karaciğerden akut faz reaktanların sentezine, kaşeksiye ve ateşe sebep olur; TNF- $\beta$  ise başlıca T lenfositlerden salınır. Daha zayıf olmak üzere TNF- $\alpha$  gibi etkiler gösterir. Çok sayıda IL saptanmış ve bunlara 1'den 16'ya kadar numara verilmiştir. IL-1'in  $\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere 2 alt tipi olup monosit, lenfosit, endotel hücreleri ve mikroglia gibi bağışıklık sistemi hücrelerinden salınırlar. İnflamasyon, ateş ve karaciğerden akut faz reaktanların sentezinin yanı sıra TNF- $\alpha$ 'nın fonksiyonunu arttırır. IL-6 ise IL-1 ve TNF- $\alpha$  ile sinerjik etki gösterir.<sup>50</sup>

### **2.7.1 Tümör Nekroz Faktörü- alfa (TNF- $\alpha$ )**

İnfeksiyonlar veya ciddi bir ameliyata bağlı doku travma sonucu oluşan inflamatuvar kompleks, bir proinflamatuvar sitokin döngüsünün başlatır. Bu sitokinlerden TNF- $\alpha$ , konakçı cevabının oluşumuna yol açan en güçlü ve ilk mediyatörlerden biridir. Periton ve splanknik dokularda çok bulunan monositler, makrofajlar ve T hücreleri TNF- $\alpha$  sentezinin kaynaklarıdır. Kupffer hücreleri, insan vücudunda bir arada bulunan en büyük makrofaj topluluğudur. İç organlardaki travmatik veya cerrahi yaralanmalar, homeostatik cevapların oluşumunda akut faz proteinlerinin yapımı ve inflamatuvar mediatorlerin oluşumu gibi belirgin etkiye sahiptir. TNF- $\alpha$  salınımı akut travmaya cevap olarak hızlı ve kısa süreli olur. Akut inflamatuvar cevap gelişimini taklit eden deneylerde endotoksin uyarısı ile tümör nekroz faktörünün monofazik bir eğri izlediği, 90 dakikada pik yapıp 4 saat içinde ölçülmeyecek düzeye indiği saptanmıştır. TNF'nin kısa süreli ortamda bulunması bile önemli hemodinamik ve metabolik değişikliklerin gelişmesine ve döngünün ileri kısmındaki sitokinlerin aktive olmasına neden olur, yarı ömrü 15 -18 dk.'dır. TNF üretiminin kısa zaman alması, ortamda regüle edilemeyecek kadar çok TNF- $\alpha$  aktivitesinin oluşmasını önleyen efektif endojen mediatörlerin olduğuna işaret eder. TNF yapımı ve aktivasyonunu engelleyen bir çok doğal mekanizma bulunduğu gösterilmiştir. Dolaşımda transmembranöz TNF reseptörlerinin (solubl TNF reseptörleri = sTNFR) endojen inhibitörleri saptanmıştır. Bu reseptörlerin

dolaşımında kompotetif olarak bulunan fazla TNF'yi sekestrize ederek koruyucu rol aldıkları sanılmaktadır. Ayrıca TNF- $\alpha$ , kaşeksi ve stres sırasındaki adale katabolizması üzerine de etkileri olan bir sitokindir. Hepatik dolaşımdaki sikluslar aracılığı ile enerji metabolizmasında iskelet hücresinden mobilize olan aminoasitler kullanılırlar. TNF- $\alpha$ 'nın diğer fonksiyonları arasında; prostaglandin E<sub>2</sub>, platelet aktive edici faktör (PAF), koagülasyonun aktivasyonu, glukokortikoidler ve eikozanoidlerin salınımının artırılması sayılabilir.<sup>49</sup>

TNF'nin biyolojik etkilerinden bazıları şöyle sıralanabilir:

- TNF- $\alpha$ ; damar endotelinde bazı adhezyon moleküllerinin, “Vascular cell adhesion molecule” VCAM-1, “endothelial leukocyte adhesion molecule” ELAM-1, “Intracellular adhesion molecule” ICAM-1” ortaya çıkmasına yol açar. Bu moleküller endotelin önce nötrofiller, sonra da mononükleer lökositler için yapışkan olmasını sağlayarak lökositlerin inflamasyon yüzeyine toplanmasına yol açar,
- TNF- $\alpha$ ; IL-1, IL-6, kemokinler ve TNF- $\alpha$ 'nın kendisini üretmek üzere mononükleer fagositleri ve diğer hücre tiplerini uyarır,
- TNF- $\alpha$ ; başlıca nötrofiller, daha az eozinofiller ve mononükleer fagositler olmak üzere lökositlerin mikroorganizmalar öldürmesini aktive eder,
- Sınıf 1 “Major histocompatibility complex” (MHC) molekül ekspresyonunu artırarak sitotoksik lenfositlerin virüsle enfekte olmuş hücreleri ortadan kaldırmasını güçlendirir.<sup>13, 51-55</sup>

TNF- $\alpha$ 'nın sistemik etkileri:

- TNF- $\alpha$  mononükleer fagosit ve vasküler endotelin IL-1 ve IL-6; hepatositlerin ise serum amiloid A, C-reaktif protein, C3 ve A<sub>2</sub> makroglobulin gibi akut faz proteinlerini sentezlemesini uyarır,
- TNF- $\alpha$  endojen pirojendir. Hipotalamik etkiyle ateş oluşur. Bu etkiyi IL-1 ile uyarır. Ateşin TNF- $\alpha$  ve IL-1'e yanıt olarak yükselmesi sitokinle uyarılmış hipotalamus hücreleri tarafından artırılan prostaglandin E<sub>2</sub> senteziyle olur,
- T hücre aktivasyonu ve B hücre proliferasyonunu indükler (immünglobulin yapımı),
- Damar endotelinin antikoagulan ve prokoagulan fonksiyonlarında değişiklikler yaparak pıhtılaşma sistemini aktive eder,



•TNF- $\alpha$ ; kondrositlerin kırıkta dökümlerini, fibroblast ve sinoviyal hücrelerin proliferasyonunu osteoblastik alkalen fosfataz aktivitesini, osteoklastların kemik rezorpsiyonunu uyarır.<sup>13,53</sup>

### 2.7.2 İnterlökin-1 (IL-1)

İnterlökin-1 enflamasyon, konak savunması ve inflamasyonda değişik süreçleri ortaya çıkarmaktan sorumlu bir sitokindir. Değişik hücreler tarafından hasara veya enfeksiyona yanıt olarak üretilir. B hücreleri üzerindeki bazı etkileri, B hücre diferansiyasyon faktörü olan IL-6'nın diğer tip hücrelerde uyarılması yoluyla ortaya çıkarılabilir. IL-1'in bilinen iki proinflamatuvar türü vardır; IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ . IL-1 $\alpha$  asıl olarak hücre zarı ile ilgilidir ve etkisini hücreler arası iletişimi aracılığı ile gösterir. Dolaşımda bulunan IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ 'ya oranla daha fazla miktarlarda sentezlenir ve travmayı takiben oluşan karakteristik sistemik değişiklikleri indükler. Benzer fizyolojik ve metabolik değişikliklere neden olan IL-1'in etkileri TNF- $\alpha$ 'ya yakındır. IL-1 ve TNF- $\alpha$  düzeyleri yükseldiğinde sitokinler bağımsız olarak bir hemodinamik dekompanzasyona neden olurlar. IL-1 ve TNF- $\alpha$ 'ın proinflamatuvar yanıt oluşturmadaki sinerjistik etki gösterirler. IL-1'in yarı ömrü 6 dk.'dır. Primer rolü lokal inflamatuvar mediatör olarak davranmaktadır. Yarı ömrü kısa olduğundan, hastalık veya akut travma halinde kanda tespit edilebilme olasılığı TNF- $\alpha$ 'ya oranla daha azdır. IL-1'den dolayı olduğu düşünülen aktivitelerin çoğu, IL-1 aracılı IL-6 uyarımı nedeniyle gibi görünmektedir. TNF- $\alpha$  ve IL-1 tarafından başlatılan inflamatuvar dökümlerinin daha distalindeki sitokin mediatörleri ise; IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, GM-CSF ve IFN- $\gamma$  dir.<sup>13,49</sup>

### 2.7.3 İnterlökin-6 (IL-6)

Stres veya akut travma sırasında kan düzeyi yükseldiğinden IL-6 genellikle sistemik inflamatuvar yanıt veya postoperatif morbidite indikatörü olarak kullanılır. IL-6'nın majör indükörleri TNF- $\alpha$  ve IL-1'dir. Travmadan sonraki 60 dk. içinde dolaşımda IL-6 düzeyi ölçülebilir, 4-6 saatte pik yapar ve dolaşımda kalma süresi 10 güne kadar uzayabilir. IL-6'nın ulaştığı kan düzeyi ameliyat sırasındaki doku hasarı ile doğru orantılıdır, ameliyatın süresi ile ilgili değildir. IL-6 proinflamatuvar ve antiinflamatuvar aktivitelerin mediatörlüğünde kompleks bir role sahiptir. Travma ve inflamasyon sırasında IL-6'nın PMNL aktivasyonunu indükler. IL-1 ve IL-6 travma sırasındaki hepatik akut faz protein yanıtının önemli mediatörleridir ve C-reaktif protein, fibrinojen, haptoglobin, amiloid A,  $\alpha$ 1-antitripsin ve kompleman yapımını da arttırdıkları

sanılmaktadır. İnflamatuvar PMNL'lerin travmayı takiben sebat etmesi, pulmoner veya renal sistemler gibi uzak dokulardaki travmatik etki ile açıklanabilir.<sup>49</sup>

Fizyolojik dengeyi sağlamada rol oynayan sitokinler hormon benzeri proteinlerdir. Sitokinler, proteinler, aminoasidler, minerallerin ve karbonhidratlar ara metabolizmasında yer alırlar. Birçok sitokin büyüme faktörü olup proinflamatuvar spesifik etkileri de vardır.<sup>56</sup>

Diğer taraftan IL-6, monosit ve makrofajlardan nötrofillerin indüklediği IL-1 ve TNF- $\alpha$  sentezinin azaltılması, adrenokortikotropik hormonu uyararak dolaşan kortizol düzeyinin arttırılması, reaktif oksijen ürünlerinin ve kısa ömürlü nitrojen ara ürünlerinin üretiminin azaltılması gibi etkilerinden dolayı antiinflamatuvar sitokinler arasında da gösterilmektedir. IL-6'nın travma sırasındaki antiinflamatuvar döngü üzerinde de çeşitli mekanizmalar aracılığı ile mediatör etkisi vardır.<sup>57</sup>

## **2.8 Ketamin**

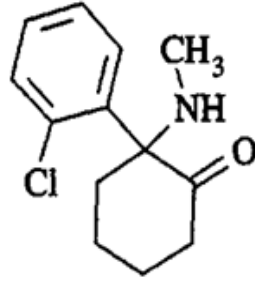
Ketamin, hafif narkotik özellikleri olan ve hızlı etki ortaya koyan kuvvetli analjezik ve anestetik bir ajandır. Fensiklidin analogu bir madde olarak klinik kullanıma 1960'lı yılların sonlarına doğru girmiştir. Diğer anestetik ajanların kullanımı sırasında sıklıkla ortaya çıkan respiratuvar ve kardiyovasküler depresyon gibi etkilere neden olmaması ve iyi bir anestezi sağlaması nedeni ile ketamin, kullanıma girdiği ilk zamanlarda oldukça yaygın kabul görmüştür.<sup>58,59</sup>

Ketamin, formasyo retikularisten gelen duyuşal uyarıları beyin korteksine gönderen talamus ile duyuşal uyarılardan sorumlu limbik korteksin ilişkisini keser. Talamokortikal sistem deprese olurken, limbik sistemin aktivasyonu ile beyin bu iki bölgesi dissosiyeye olur. Dissosiyatif anestezi denilen bu durumda hasta gözlerini açabilir, yutkunabilir veya kas kontraksiyonları izlenebilir fakat hasta duyuşal uyarıları algılayamaz.<sup>60,61,62</sup>

### **2.8.1 Kimyasal Yapı ve İzomerleri**

Ketaminin moleküler yapısı [2-(0-klorofenil)-2-metil-aminosikloheksan]'dur. Atmosferde farklı yerlerde bulunabilen sentetik ilaçlar resim ve aynadaki görüntü gibi stereoizomerlerden oluşan karışımlardır. Bu yapıları "enantiyomer" denir. Ketaminin de S(+) ve R(-) olmak üzere iki enantiyomeri vardır. Güncel farmosetik formülü her iki enantiyomerin eşit oranda karışımını kapsar. Daha dik konsantrasyon etki eğrisine sahip olan S(+) ketamini R(-)

ketamine göre 3-4 kat potanttir. S(+) ketamin ile derlenme daha hızlı iken, halusinojenik potansiyel ise daha düşüktür.<sup>11</sup>



Şekil 4: Ketaminin moleküler yapısı [2-(0-klorofenil)-2-metil-aminosikloheksan]

### 2.8.2 Doz ve Uygulama Yolları

Ketamin; intramuskuler (İM), intravenöz (İV), oral, rektal, epidural, nazal ve kaudal yolla, premedikasyon, sedasyon, genel anestezi indüksiyon idamesi ve ağrı tedavisi amacıyla uygulanabilir. En sık kullanılan yollar ilacın hızla terapötik düzeye ulaştığı İV ve İM yollardır. İlacın dozu istenilen terapötik etki ve veriliş yoluna bağlıdır (Tablo I).<sup>11</sup>

TabloI: Ketaminin doz ve uygulama yolları

Uygulama yolları	Doz
➤ <b>Anestezi indüksiyonu</b>	
◆ İV bolus	0,5-2 mg.kg <sup>-1</sup>
◆ İM	4-6 mg.kg <sup>-1</sup>
➤ <b>Anestezi idamesi</b>	
◆ İV	1-1,5 mg.kg <sup>-1</sup>
◆ İM	8-10 mg.kg <sup>-1</sup>
➤ <b>Premedikasyon – sedasyon</b>	
◆ Oral yol	8 mg.kg <sup>-1</sup>
◆ Rektal yol	6-10 mg.kg <sup>-1</sup> (2,5 cc içinde)
➤ <b>Ağrı tedavisi</b>	
◆ Kaudal yol	0,5 mg.kg <sup>-1</sup> (Rasemik ketamin)
	1 mg.kg <sup>-1</sup> (S+ ketamin)
➤ <b>Sedasyon – analjezi</b>	
◆ İV bolus	0,25-0,5 mg.kg <sup>-1</sup>
◆ İM	2-4 mg.kg <sup>-1</sup>
◆ İV infüzyon	1-2 mg.kg <sup>-1</sup> saat <sup>-1</sup> (Hastanın yaşına göre 20-80 mg.kg <sup>-1</sup> dk <sup>-1</sup> )

İntravenöz uygulamayı 30-60 saniyede maksimum etkiye ulaşılır. İM uygulamadan sonra etki 5 dakikada başlar, 20. dakikada maksimum düzeye ulaşır. Genel anestezi dozunda (2 mg.kg<sup>-1</sup> İV) tek uygulama yapılarak verilen ketamin 15 dk.'lık bir anestezi sağlar ve zamana, kişiye ve yere tam oryantasyon 15-30 dk.'yı bulur.<sup>63</sup>

Sonuç olarak; 1965 yılında klinik kullanıma sunulduğu halde günümüzde diğer intravenöz anestetiklerden çok farklı özellikleri ve karmaşık etki mekanizması ile anesteziistlerin dikkatini tekrar üzerine çeken ketamin bir fensiklidin türevidir. Daha potent olmasına karşın yan etkilerinin az olması nedeniyle S(+) ketamin klinik kullanımda rasemik ketaminin yerini almaya adaydır.<sup>11</sup>

### 2.8.3 Etki Mekanizmaları

Ketaminin etki mekanizması oldukça komplekstir. Madde, opiyat, muskarinik, beyinde N-metil-D-aspartat (NMDA), kolinerjik ve nikotinik reseptörler gibi çeşitli reseptörler ile etkileşir.<sup>58</sup>

Ketamin, esas etkisini NMDA reseptörlerin bloke ederek gösterir. Bileşik ve spesifik olarak, zayıf bağlarla NMDA reseptörlerinde bulunan fensiklidin bağlanma bölgelerine bağlanır ve enzimi yarışmasız olarak bloke eder. R(-)ketamin insan beyinde NMDA reseptörlerine oranla S(+)ketamine göre 4-5 kat daha az bağlanır. Analjezi, nörotoksisite ve genel anestezi mekanizmalarında rol oynayan bir reseptör olan NMDA, glutamat reseptör ailesinin bir üyesidir. İstirahat membran potansiyelinde ekstraselüler Mg<sup>+2</sup> iyonu NMDA reseptörünün blokajı, ancak bir agonistin varlığında depolarizasyon gerçekleşirse ortadan kalkar. Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> değişiminin gerçekleşmesi reseptör aktivasyonu sonucu olur. NMDA reseptörlerinin Ca<sup>+2</sup>a yüksek oranda geçirgen olması, reseptörlerin pek çok nöropatolojide rol oynamasına yol açar. Bir agonistin reseptörü aktive etmesiyle nonkompetitif tipte bağlanma mümkündür. Bu etki ketamin gibi bir NMDA reseptör antagonisti ile baskılandığında tekrar bir agonistin bağlanması zordur.<sup>58,61</sup>

NO kaynaklı ağrı tedavisinde de opioidlerle birlikte kullanıldığında ketamin etkin bulunmuştur. Özellikle sepsisli hastaların anestezi indüksiyonunda kullanıldığında ketamin, proinflamatuvar sitokin salınımını baskılamaktadır. Nötrofilin SOR üretimini inhibe ettiği invitro çalışmalarda gösterilmiştir. Nötrofil ayrıca TNF- $\alpha$  üretimini de baskılayarak endotoksinle bağlı hücre bütünlüğünün bozulmasını engellediği de ileri sürülmektedir.<sup>11</sup>

#### 2.8.4 Farmakoloji

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. Her 1 ml'si 10 mg (% 1), 50 mg (% 5) S(+) Ketamin içeren preparatları bulunur. Lipitte eriyebilirliği thiopental'e göre 5-100 kez daha fazla olup proteinlere bağlanabilirliği düşüktür (% 12). Daha ziyade  $\alpha$ -1 asit glukoproteine bağlanıp İV enjeksiyon sonu kısa sürede kan beyin kariyerini aşmış beyinde yoğunlaşır. İntial distribisyonu iki fazlı olup a fazı: 7-11 dk, b fazı: 2-3 saat, terminal eliminasyon zamanı 12 saat kadardır. İV 2 mg.kg<sup>-1</sup> dozda etkisi 30-60 saniye içinde başlar (Şuur kaybı). Uyanma süresi 10-15 dk kadardır. Plazma ketamin konsantrasyonu 10-15 dk sonra 640-1000 ngr/litredir. Etkisinin kısa sürmesinin nedeni beyin dokusundan hızlı bir şekilde kanlanması bol olan diğer dokulara dağılmasıdır. Ortalama toplam vücut klirensi yaklaşık karaciğer kan akımına eşittir (1,4 lt/dk). Hepatik kan akımını azaltan halotan gibi ilaçlar ketaminin klirensini azaltırlar.<sup>64,65</sup>

Ketamin ağırlıklı olarak karaciğerde sitokrom P<sub>450</sub>'ye bağımlı detoksifikasyondan sorumlu mikrozomal enzimlerce N-Demetilasyon yolu ile metabolize edilir, çok az bir kısmı diğer dokularda biyotransformasyona uğrar. İlk metaboliti Norketamin olup 2 mg.kg<sup>-1</sup> iv. doz sonrası plazma pik değeri 30 dk.'da 300 ngr/litredir. İkinci metaboliti hidroksinorketamindir. Norketamin ve hidroksinorketamin suda çözünen glukuronid derivelerine konjuge edilirler ve % 91 idrarla, % 4 gaita ile geri kalanı değişmeden atılırlar. Norketamin aktifliği ketamine göre 1/5-1/3 oranında düşüktür. Ketaminin büyük bir kısmı değişmeden dokularda kalmakta tekrarlanan dozlarda veya sürekli uygulamalarda vücutta birikme olmaktadır. Barbitüratlar ve benzodiazepinler ketaminin yarılanma ömrünü uzatırlar. Aynı anda diazepam ketaminin klirensini yükselterek plazma düzeyinin yükselmesine neden olur. Zira diazepam ketaminin N-Demetilasyonun kompetitif inhibitörüdür.<sup>64,62</sup>

#### 2.8.5 Kardiyovasküler sistem üzerine etkileri

Ketamin kardiyovasküler sistem üzerine stimülan etkisi olan tek İV anesteziiktir. 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 damar direnci artar. Muhtemelen ketamin santral sempatik stimülasyonu sonucu noradrenalin salınımındaki artış sorumludur. Bu etki kısmen barbitüratlar, benzodiazepinler ve nöroleptikler ile

azaltılabilir. Ayrıca, kokaine benzer bir etki ile katekolaminlerin intra ve ekstra nöral uptake'ini baskılar. Koroner arter hastalığı, hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, aort anevrizması olanlara uygulanmamalıdır. Buna karşılık akut hipovolemik şokta indirekt uyarıcı etkisinden yararlanılır.<sup>62</sup>

### **2.8.6 Solunum sistemi üzerine etkileri**

Ketaminin solunum merkezine etkisi minimaldir. 2 mg.kg<sup>-1</sup> İV bolus doz sonrası 1-3 dk solunum sayısında bir azalma gözlenir, nadiren doza, enjeksiyon hızına, premedikasyonda kullanılan ajanların etkisi ile apne gelişebilir. Anestezi veya analjezi amacıyla tek başına kullanılan ketamin arteriyel kan gazlarına etki etmez. Prensip olarak CO<sub>2</sub> değişikliklerine respiratuvar cevap korunur. Ketaminin adrenalinin antispazmojenik etkisini potansiyalize ettiği bilinmektedir. Ketamin, indüklenen bronkospazmda halotan kadar etkili olmaktadır. İzole bronşiyal düz kas çalışmalarında ketaminin karbakol ve histaminin spazmojenik etkilerini antagonize ettiği gösterilmiştir. Yutma, öksürük, hapşırma, hıçkırma gibi refleksler ketamin altında intakt olmasına rağmen anestezi altında aspirasyon mümkündür. Çocuklarda ketamin kullanımının potansiyel tehlikesi trakeobronşiyal ve tükrük sekresyonundaki artışa ve üst solunum yollarında obstrüksiyona neden olmasıdır. Sonuçta laringospazm gelişebilir. Bu yüzden mutlaka atropin veya glikopirulat gibi vagolitik ajanlarla beraber kullanılmalıdır.<sup>61, 64, 65</sup>

### **2.8.7 Santral Sinir Sistemi 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 üzerine etkilidir, bu etki subanestezik dozlarda da meydana gelir. Ketaminin 2 mg.kg<sup>-1</sup> İV dozu sonrası hasta yüzünde hissizlik tablosu oluşur, yüksek yağda erirliği nedeniyle hızlı bir şekilde kan beyin bariyerini aşar ve 30-60 sn içinde etkisi gözlenmeye başlar, göz bebekleri makul ölçüde büyür ve horizontal vertikal nistagmus gözlenir. Kirpik, kornea ve laringeal refleksler yerindedir ancak koruyucu olduğu söylenemez. Ketaminin anestezi süresi 10-15 dk'dır ve kişiye, zamana ve çevreye oriyantasyon 20-30 dk içinde tamamen geri döner. Anestezinin süresi doza bağımlıdır ve ketamin kan düzeyi ile SSS'ne etkisi arasında iyi bir koorelasyon vardır.<sup>63</sup>

Ketamin anestezisi altında sıklıkla rahatsız edici rüyalar, optik halüsinasyonlar gelişir. Hastalar postoperatif dönemde çift görmeden, vücutlarının değiştiğinden boşlukta dolaştıklarından şikâyet ederler. Bu şikâyetleri önlemek için ketamin enjeksiyonu öncesi İV veya İM premedikasyonda benzodiazepinler kullanılabilir. Postoperatif 30-60 dk içinde etkisi kaybolur. Görsel ve duyuşal merkezlerin ketamin ile baskılanması sonucu yanlış algılama ve stimülasyonları yanlış yorumlanmasına neden olur. Bu durumun görülme sıklığı % 5-100 oranında olup, etkileyen faktörler olarak doz, yaş, cinsiyet ve psikolojik hassasiyet sayılabilir. Ayrıca yüksek doz ve hızlı ketamin enjeksiyonu en önemli nedenlerdendir. Hastalar postoperatif sakin bir yerde uyarılmadan bekletilmelidir. Yaşlılarda, küçük çocuklarda ve ketamin sonrası uzun süreli genel anestezi alanlarda daha seyrek görülür.<sup>11</sup>

Ketamin beyin damarlarını dilate ederek beyin kan akımını % 60'a kadar artırarak kafa içi basıncını artırır. Beyin damar direnci 1,9'dan 1,38 mmHg/ml/100 gr'a geriler. Bu nedenle intrakranial yer kaplayan kitlesi olan hastalarda kullanılmamalıdır. Ancak beyin kan akımının otoregülasyonu değişmemektedir. EEG'de teta dalgaları ve nadiren delta aktivitesi gözlenir. Uyarılmış potansiyeller ketamin ile değişir. Serebrovasküler CO<sub>2</sub> cevabı ketamin anestezisi altında korunur ve azalmış PaCO<sub>2</sub> ketamin sonrası İKB artışını baskılar. Ketamin etkisi, aynı anda diğer benzodiazepinler, inhalasyon anestezipler, nöroleptikler gibi ajanların kullanıldığı durumlarda uzar.<sup>61, 64, 65</sup>

Ketamin NMDA reseptörlerine etki ederek dissosiyatif anestezi oluşturmaktadır. Bu sebeple ketaminin indüksiyonda veya premedikasyon amacıyla kullanıldığı vakalarda postoperatif uyanmanın geciktiği bildirilmektedir.<sup>66-68</sup>

### **2.8.8 Diğer sistemlere etkileri**

Yapılan çalışmalarda yetersiz sedasyon, hipotansiyon ve bronkospazm problemlerini çözmek için ketamin infüzyonu faydalı bulunmuştur. Bu yüzden, mekanik ventilatörde olsun veya olmasın, inotrop ihtiyacı olup olmadığına bakılmaksızın seçilmiş bronkospazmlı hastalarda ketaminin kullanılabilceği düşünülmektedir. Sıklıkla iskelet kaslarında tonus artışına neden olur. Ketaminin nöromüsküler etkisi direkt postsinaptik etkisinden kaynaklanır. Ca<sup>+2</sup> bağlanma yerlerine etki ederek süksinikolin ve panküronyumun nöromüsküler etkisini artırır. Plazma histamin düzeyini artırabilir ve hızlı enjeksiyon sonrası eriteme benzer cilt değişikliklerine neden olabilir. Glomerüler filtrasyonu ve böbrek kan akımı üzerine direkt bir etkisi yoktur.<sup>62, 64</sup>

### **3. MATERYAL METOD**

#### **3.1 Deney Hayvanları**

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı tarafından KSÜ Deneysel Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Çalışma için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulundan 12.11.2009 tarihinde 2009-3 sayılı izin alındı. Deneylerde kullanılan sıçanlar Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney hayvanları barınağından temin edildi. Çalışmada kullanılan tüm ratlar  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$  oda sıcaklığında ve % 50-60 nem ortamında saklandı. Hayvanlar standart laboratuvar yemi ve su ile beslendiler. Deney hayvanlarının ağırlıkları 250-280 gram arasındaydı; deneylerde toplam olarak 42 adet Wistar albino cinsi erkek rat kullanıldı.

#### **3.2 İskemi Reperfüzyon Hasarı Modeli**

Çalışmanın yapılacağı gün ratlar araştırma laboratuvarına getirildi ve tartıldılar. Sıçanlara intraperitoneal (İP) Ürethan % 99  $1\text{g.kg}^{-1}$  dozda verilerek anestezi sağlandı. Sıçanlara anestezi uygulandıktan sonra, abdomen sırtüstü yatar pozisyonda iken polivinyl povidon ve steril gazlı bezle temizlendi. Yaklaşık 3cm'lik orta hat kesisi ile tabakalar geçilerek, barsakların ıslak gazlı bez yardımıyla uzaklaştırılması ardından dikkatli bir şekilde böbreklere ulaşıldı. Sol böbrek arter ve venine küçük atravmatik vasküler klemp yerleştirilerek renal iskemi sağlandı. Arter pulsasyonlarının tamamen kesildiğinden emin olundu, sıvı ve ısı kaybını önlemek için açıkta kalan karın bölgesi üzerine ılık serum fizyolojik ile ıslatılmış spanç konuldu. İskeminin 45. dakikasında denenecek olan etken madde İP yoldan verildi. 60 dakikalık iskemi süresi sonunda klempler açıldı. Renal arter ve vende akımın devam ettiği gözlemlendi. Bir saatlik reperfüzyon sonrasında histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler için sol nefrektomi yapılarak doku örneği alındı. Proinflamatuvar incelemeler için intrakardiyak kan örneği alınarak deney sonlandırıldı. Çıkarılan böbrek dokusu histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için eşit iki parçaya ayrılarak saklandı (Şekil 5-8).

Histopatolojik değerlendirme Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalında, biyokimyasal (MDA ve NO) değerlendirme Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalında, proinflamatuvar (IL-1, IL-2 ve TNF- $\alpha$ ) değerlendirmeler Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim dalında çalışıldı.



### 3.3 Deney Grupları

Ratlar eşit sayıda (n=6) ve rastgele olarak 7 deney grubuna ayrıldı. Çalışmaya dahil edilen deneklerin hepsinin anestezisi Urethan % 99  $1\text{g.kg}^{-1}$  dozda İP uygulandı.

**Grup 1 (Sham):** Laparotomi yapıldı ve 120 dakika sonra sol nefrektomi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı. Deney sırasında herhangi bir etken madde uygulanmadı.

**Grup 2 (Kontrol):** Laparotomi, 60 dakika iskemi ve 60 dakika reperfüzyon sonrası sol böbreğe nefrektomi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı. Deney sırasında herhangi bir etken madde uygulanmadı.

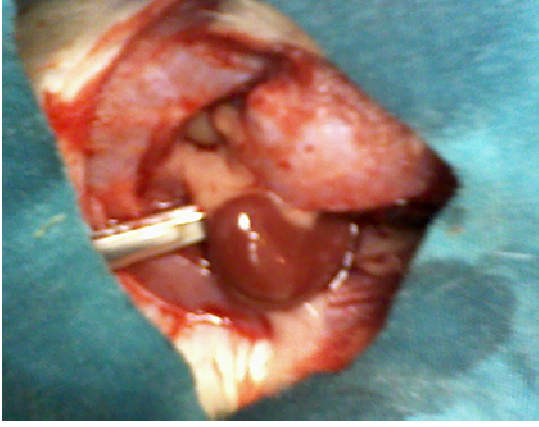
**Grup 3 (İR + Ketamin 3  $\text{mg.kg}^{-1}$ ):** Laparotomi, 60 dakika iskemi, reperfüzyondan 15 dakika önce 3  $\text{mg.kg}^{-1}$  ketamin İP yolla uygulandı. 60 dakika reperfüzyon sonrası sol böbreğe nefrektomi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı.

**Grup 4 (İR + Ketamin 10  $\text{mg.kg}^{-1}$ ):** Laparotomi, 60 dakika iskemi reperfüzyondan 15 dakika önce 10  $\text{mg.kg}^{-1}$  ketamin İP olarak uygulandı ve 60 dakika reperfüzyon sonrası sol böbreğe nefrektomi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı.

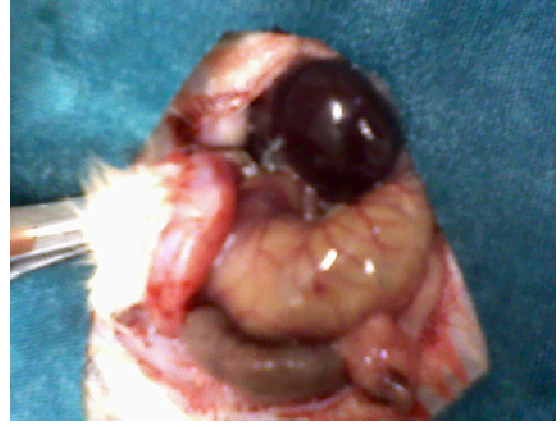
**Grup 5 (İR + Ketamin 30  $\text{mg.kg}^{-1}$ ):** Laparotomi, 60 dakika iskemi, reperfüzyondan 15 dakika önce 30  $\text{mg.kg}^{-1}$  ketamin İP olarak uygulandı ve 60 dakika reperfüzyon sonrası sol böbreğe nefrektomi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı.

**Grup 6 (İR + Ketamin 60  $\text{mg.kg}^{-1}$ ):** Laparotomi, 60 dakika iskemi, reperfüzyondan 15 dakika önce 60  $\text{mg.kg}^{-1}$  ketamin İP olarak uygulandı ve 60 dakika reperfüzyon sonrası sol böbreğe nefrektomi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı.

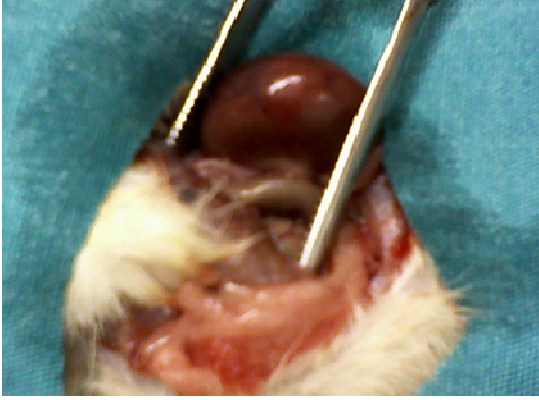
**Grup 7 (İR + Ketamin 80  $\text{mg.kg}^{-1}$ ):** Laparotomi, 60 dakika iskemi reperfüzyondan 15 dakika önce 80  $\text{mg.kg}^{-1}$  ketamin İP olarak uygulandı ve 60 dakika reperfüzyon sonrası sol böbreğe nefrektomi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı.



Şekil 5. Normal böbrek



Şekil 6. İskeminin 60. Dakikasında böbrek



Şekil 7. Reperfüzyonun 60. dakikasında böbrek



Şekil 8. Böbrek materyalinin ikiye bölünmüş görünümü

### 3.4 Kullanılan İlaçlar:

Çalışmada kullanılan ilaçlar şunlardır: Urethane % 99 (Ethyl carbamate): Sigma-Aldrich; 94300-50 gram Ketamin (KETALAR flakon) : Eczacıbaşı İlaç Sanayi ve Ticaret AŞ, Küçükkarıştıran/Lüleburgaz).

### 3.5 Biyokimyasal İnceleme Yöntemleri

Deneklerden MDA, SOD, GPx, NO analizi için alınan böbrek materyali alüminyum folyolara sarılarak azot tankı içine ivedilikle sarkıtıldı. Azot tankının içinde laboratuvara ulaştırılan doku örnekleri analiz gününe kadar  $-70^{\circ}\text{C}$ 'de donduruldu.

### 3.6 Doku Analizleri

Deney sonunda sıçanların sol nefrektomi materyalinden alınan doku örnekleri tartılıp, 1/5 oranında soğuk %1.15 M KCl solüsyonu ile 14000 devirde 30 dakika homojenize edildi. Daha sonra + 4°C de 10000 x g de 30 dakika santrifüj edilerek süpernatantları ayrıldı. Süpernatantlarda antioksidan enzim düzeyleri ve oksidatif hasarın göstergesi olan NO ve MDA ile doku protein düzeyleri ölçüldü. Böbrek dokusunda SOD<sup>69</sup>, GPx<sup>70</sup> enzim aktiviteleri ve MDA<sup>71</sup>, NO<sup>65</sup> ve protein<sup>72</sup> düzeyleri Shidmadzu-UV 1601 Spectrophotometer (Japan)'de ölçüldü. Protein tayini Lowry yöntemine göre yapıldı.

Antioksidan enzim aktivite sonuçları U.mg<sup>-1</sup> protein, MDA seviyesi nmol.mg<sup>-1</sup> protein, NO seviyesi ise µmol.mg<sup>-1</sup> protein olarak tayin edilmiştir.

#### 3.6.1 Doku MDA Analizi

Doku MDA düzeyleri Okawa ve arkadaşlarının tariflediği yöntemle göre tayin edildi. Bu yöntemin ilkesi; homojenattaki proteinlerin sodyum dodesil sülfat (SDS) ile bağlanmasından sonra örnekte bulunan MDA'nın tiobarbitürik asit (TBA) ile asidik pH ve sıcak ortamda tepkimesi sonucu oluşan pembe renkli pigmentin spektrofotometrik ölçümüne dayanmaktadır. MDA'nın kendisi stabil olmadığından, standart olarak test sırasında MDA'ya hidroliz olan 1,1,4,4-tetramethoksiopropan kullanılmıştır. Yöntem uygulama prosedürüne göre; 0,1 ml süpernatant süspansiyonu üzerine 0,2 ml % 8,1'lik sodyum dodesil sülfat, 1,5 ml % 20'lik asetik asit, 1,5 ml % 0,8'lik tiobarbitürik asit ve 0,7 ml saf su konularak 95°C'de 45 dakika su banyosunda kaynatılır. Tüpler soğutulduktan sonra 1 ml saf su ve 5 ml n-butanol/piridin (1:15 oranında) ilave edilir ve sonra tüpler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonrası üstteki organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda absorban okunur ve değerler standart eğriden değerlendirilir.<sup>71</sup>

#### 3.6.2 Doku SOD Analizi

Süperoksid dismutaz aktivitesi, hemolizatta Fridovich yöntemiyle saptanmıştır. SOD aktivite tayini için, süpernatant 1/65 oranında 0,01 M fosfat tampon ile dilüe edilerek aktivite tayini yapıldı. Reaksiyon karışımı, 1 ml'lik total volümde 25 µl numune, 850 µl ksantin ve p-iyodonitrotetrazolium viyole (INT) içeren miks substrat ve 125 µl 80 Ü.L<sup>-1</sup> ksantin oksidazdan oluştu. Kör de tıpkı numune gibi hazırlandı fakat örnek yerine fosfat tamponu kondu. Tepkime, 37 °C'de ışık yolu 1 cm olan küvetlerde

505 nm dalga boyunda havaya karşı ilk 30 saniyedeki başlangıç absorbansları ( $A_1$ ) okundu. Aynı anda kronometre çalıştırılarak 3 dk. sonra son absorbansları ( $A_2$ ) tekrar okundu ve değerler standart eğriden değerlendirildi.<sup>69</sup>

### **3.6.3 Doku GPx Analizi**

Glutasyon peroksidaz aktivitesi Beutler yöntemiyle saptanmıştır. Reaksiyon karışımı 1 ml'lik total volümde 100 $\mu$ mol 1M Tris-HCL pH 8.0 tampon, 20 $\mu$ l 0.1 M GSH, 100 $\mu$ l 10 U.ml<sup>-1</sup> GR, 100 $\mu$ l 2mM NADPH ve belirli miktarlarda saf su ve enzim içeren süpernatant 37°C de 10 dakika inkübe edildikten, 10 $\mu$ l 7mM t-butil hidroperoksit konulduktan sonra başlatılmıştır. Tepkime, 37°C de enzim tarafından oksitlenen 1 $\mu$ mol NADPH'ın 340 nm dalga boyunda 5 dakika süreyle her 2,5 dakikadaki absorbans değişimi izlenerek gerçekleştirilmiştir.<sup>70</sup>

### **3.6.4 Doku NO Analizi**

Nitrik oksid ölçümü, nitrit düzeylerini tespit etmek için Cortas ve ark.nın kullandığı Griess metodu kullanılarak yapıldı. NO dayanıksız ve yarılanma ömrü kısadır; oksijenin varlığında nitrit veya nitrat oluşturmak için reaksiyona girer. NO radikallerinin direkt tanımlanması zor olduğundan ve nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesinin sadece doku veya hücre homojenatlarında yapılabilmesinden dolayı, sıklıkla NO radikallerinin dayanıklı son ürünleri NO üretiminin miktarının göstergesi olarak kullanılır.<sup>73</sup>

## **3.7 Proinflamatuvar Komponent Düzeylerinin Araştırılması**

Ratlardan alınan kan örnekleri 3000 rpm.'de 10 dk. santifüj edildikten sonra serum -70°C'de işlem yapılana kadar depolandı.

### **3.7.1 Tümör Nekroz Faktör - Alfa (TNF – $\alpha$ )**

TNF- $\alpha$  ölçümü; ELİSA (enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemi ile ölçüldü. ELİSA kiti (USA, eBioscience, Inc.10255 Science Center Drive, San Diego, CA 92121). Laboratuvarımızdaki ölçülebilen minimum değer 39,1 pg.ml<sup>-1</sup> dir.

### 3.7.2 IL-1 (İnterlökin 1)

IL-1 ölçümü; ELİSA (enzyme-linked immunosorbent assay ) yöntemi ile ölçüldü. ELİSA kiti (USA, eBioscience, Inc.10255 Science Center Drive, San Diego, CA 92121). Laboratuvarımızdaki ölçülebilen minimum değer 16 pg.ml<sup>-1</sup> dir.

### 3.7.3 IL-6 (interlökin 6)

IL-6 ölçümü; ELİSA (enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemi ile ölçüldü. ELİSA kiti (USA, eBioscience, Inc.10255 Science Center Drive, San Diego, CA 92121). Laboratuvarımızdaki ölçülebilen minimum değer 31 pg.ml<sup>-1</sup> dir.

## 3.8 Histopatolojik Olarak İncelenmesi

Histopatolojik inceleme için doku örnekleri % 10'luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonunda 24 saat fikse edildi. Örneklerin tümü doku takip cihazında rutin takibe alınarak parafin bloklar hazırlandı. Bu parafin bloklardan mikrotom ile her doku örneği için 5 µm kalınlığında seri kesitler hazırlanarak hemotoksilen eozin (HE) boyası ile boyandı. Işık mikroskobu ile histopatolojik incelemeye tabi tutuldu. Böbrek dokuları; tübüler hücre şişmesi, intertisyel ödem, tübüler dilatasyon, meduller konjesyon, epitel nekrozu, hyalin cast oluşumu parametreleri yönünden incelendi.

Tübüler hücre şişmesi, intertisyel ödem, tübüler dilatasyon, meduller konjesyon, epitel nekrozu, hyalin cast oluşumu yönünden bulgu yok [negatif (-)] ve bulgu var [pozitif(+)] olarak derecelendirildi. Bulgu var ise kendi içinde hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak derecelendirildi. Histopatolojik bulguların gruplara göre ortalama skorları (-) bulgu yok 0 puan, (+) hafif 1 puan, (++) orta 2 puan ve (+++) şiddetli 3 puan olarak derecelendirilerek hesaplandı.<sup>74</sup>

## 3.9 İstatistik

İstatistiksel analizin yapılmasında bilgisayar programı olarak (SPSS Inc. Chicago, IL; USA) kullanıldı. Sayısal değişkenler ortalama ± standart sapma şeklinde sunuldu. Biyokimyasal verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sırasında gruplar arasındaki farkların incelenmesinde Kruskal-Wallis testi, ikili karşılaştırmaların değerlendirilmesinde ise Mann-Whitney U testi kullanıldı, p<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışmamızda renal dokuda çalışılan histokimyasal parametrelerden MDA ve NO değerleri, antioksidanlardan SOD ve GPx aktiviteleri ve kanda çalışılan proinflatuar parametrelerden IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  değerleri ile doku hasarının histopatolojik skorların ortalama değerleri standart sapmaları ile birlikte verilmiştir.

Tablo II: Deneş gruplarının IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , MDA, SOD, NO, GPx analiz sonuçları  
(Ort. değer  $\pm$  St. Sapma / Min.-Maks. değer )

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	Grup 7
	Sham	Kontrol	İ/R+3mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+10mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+30mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+60mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+80mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin
IL-1 pg.ml <sup>-1</sup>	8,42 $\pm$ 0,26 8,10-8,80	19,85 $\pm$ 8,79 * 14,20-37,20	12,85 $\pm$ 6,02** 8,10-22,40	14,70 $\pm$ 5,59 8,20-22,00	14,92 $\pm$ 4,93 9,10-22,50	15,62 $\pm$ 4,70 9,60-23,10	15,58 $\pm$ 4,94 10,40-24,20
IL-6 pg.ml <sup>-1</sup>	27,90 $\pm$ 5,08 19,6-33,40	45,80 $\pm$ 14,00 * 31,30-64,70	32,65 $\pm$ 5,51** 26,10-40,20	34,85 $\pm$ 10,36 23,50-48,20	34,60 $\pm$ 7,03 28,10-46,50	36,25 $\pm$ 7,52 29,20-46,20	35,37 $\pm$ 6,05 30,30-46,20
TNF- $\alpha$ pg.ml <sup>-1</sup>	29,52 $\pm$ 11,98 18,50-46,40	45,60 $\pm$ 18,35 29,00-77,20	32,82 $\pm$ 7,38 24,50-45,70	32,07 $\pm$ 6,13 22,50-37,50	38,78 $\pm$ 9,52 32,10-56,50	35,93 $\pm$ 8,88 22,10-45,70	35,73 $\pm$ 8,00 26,10-49,50
MDA nmol.mg <sup>-1</sup>	3,11 $\pm$ 1,19 2,03-4,75	9,61 $\pm$ 4,37 * 5,85-17,26	3,34 $\pm$ 0,80 ** 2,01-4,48	3,46 $\pm$ 0,61 ** 2,74-4,42	3,26 $\pm$ 0,75 ** 2,58-4,61	3,10 $\pm$ 0,89 ** 2,11-4,17	3,10 $\pm$ 0,53 ** 2,38-3,70
SOD U.mg <sup>-1</sup> pr.	24,21 $\pm$ 6,90 17,15-35,82	8,18 $\pm$ 3,64 * 3,99-13,90	16,36 $\pm$ 4,90** 11,14-24,12	14,27 $\pm$ 3,95 ** 10,74-19,55	14,90 $\pm$ 3,63 ** 10,04-19,52	17,04 $\pm$ 4,05 ** 10,63-22,40	13,43 $\pm$ 2,65 ** 10,86-17,53
NO $\mu$ mol.mg <sup>-1</sup> pr.	0,50 $\pm$ 0,08 0,38-0,61	1,95 $\pm$ 0,45 * 1,10-2,39	0,68 $\pm$ 0,09 ** 0,58-0,80	0,68 $\pm$ 0,16 ** 0,44-0,87	1,03 $\pm$ 0,45 ** 0,64-1,78	0,97 $\pm$ 0,28 ** 0,75-1,53	0,90 $\pm$ 0,32 ** 0,42-1,27
GPx U.mg <sup>-1</sup> pr.	0,68 $\pm$ 0,15 0,49-0,86	0,02 $\pm$ 0,01* 0,01-0,03	0,26 $\pm$ 0,04 ** 0,20-0,32	0,41 $\pm$ 0,12 ** 0,21-0,51	0,48 $\pm$ 0,16 ** 0,35-0,77	0,43 $\pm$ 0,11** 0,34-0,64	0,44 $\pm$ 0,20 ** 0,29-0,81

\*Sham grubuna göre anlamlı değer (p<0.05)

\*\*Kontrol grubuna göre anlamlı değer (p<0.05)

##### 4.1 IL-1, IL-6 Değerleri Üzerine etkiler

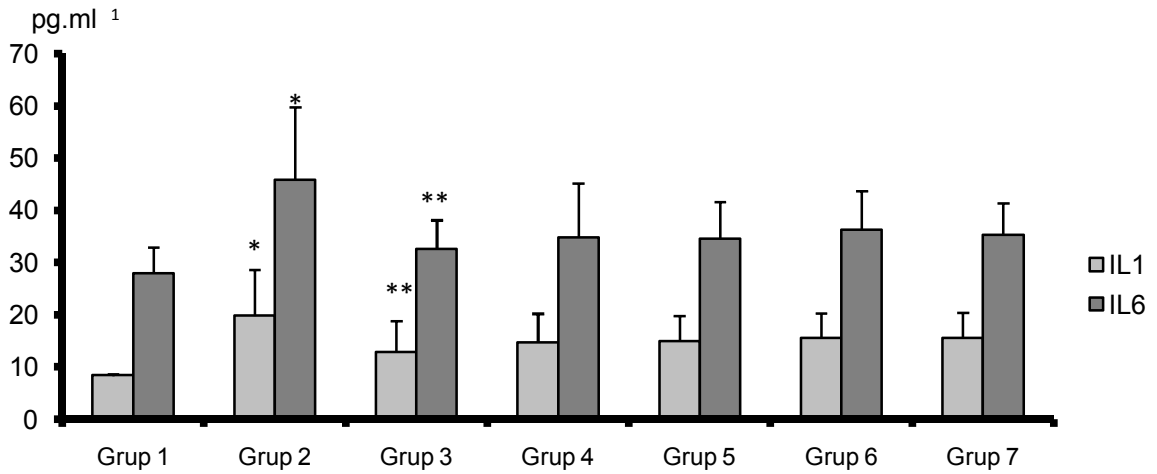
Böbrek dokusunda tespit edilen IL-1 değerleri incelendiğinde 8,10 pg.ml<sup>-1</sup> ile 37,20 pg.ml<sup>-1</sup> arasında değişen değerler elde edildi. Ortalama IL-1 değerleri hesaplandığında en düşük IL-1 değerinin sham grubunda (8,42  $\pm$  0,26 pg.ml<sup>-1</sup>) olduğu en yüksek değerin ise kontrol grubunda (19,85  $\pm$  8,7 pg.ml<sup>-1</sup>) olduğu saptandı (tablo II, Şekil 9).

IL-1 gruplar arasında kıyaslandığında;

1-Kontrol grubundaki IL-1 seviyesi sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edildi ( $p<0.05$ ).

2-Grup 3 (İR +Ketamin 3 mg.kg<sup>-1</sup>) IL-1 seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük tespit edildi ( $p<0.05$ ).

3-Ketamin uygulanan diğer gruplarda (10 mg.kg<sup>-1</sup>, 30 mg.kg<sup>-1</sup>, 60 mg.kg<sup>-1</sup>, 80 mg.kg<sup>-1</sup>) tespit edilen IL-1 değerleri kontrol grubuna göre düşük olmakla birlikte, kontrol grubu ile kıyaslandığında bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ( $p>0.05$ ).



Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	Grup 7
Sham	Kontrol	İ/R+3 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+10 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+30 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+60 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+80 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin

\* sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek ( $p<0.05$ ).

\*\* kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük ( $p<0.05$ ).

Şekil 9. Gruplarda IL-1 ve IL-6 değerleri

Böbrek dokusunda tespit edilen IL-6 değerleri incelendiğinde 19,6 pg.ml<sup>-1</sup> ile 64,70 pg.ml<sup>-1</sup> arasında değişen değerler elde edildi. Ortalama IL-6 değerleri hesaplandığında en düşük IL-6 değerinin sham grubunda (27,90±5,08 pg.ml<sup>-1</sup>) olduğu en yüksek değer ise kontrol grubunda (45,80±14,00 pg.ml<sup>-1</sup>) olduğu saptandı (tablo II, Şekil 9).

IL-6 gruplar arasında kıyaslandığında;

1-Kontrol grubundaki IL-6 seviyesi sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edildi ( $p<0.05$ ).

2-Grup 3 (İR +Ketamin 3 mg.kg<sup>-1</sup>) IL-6 seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük tespit edildi (p<0.05).

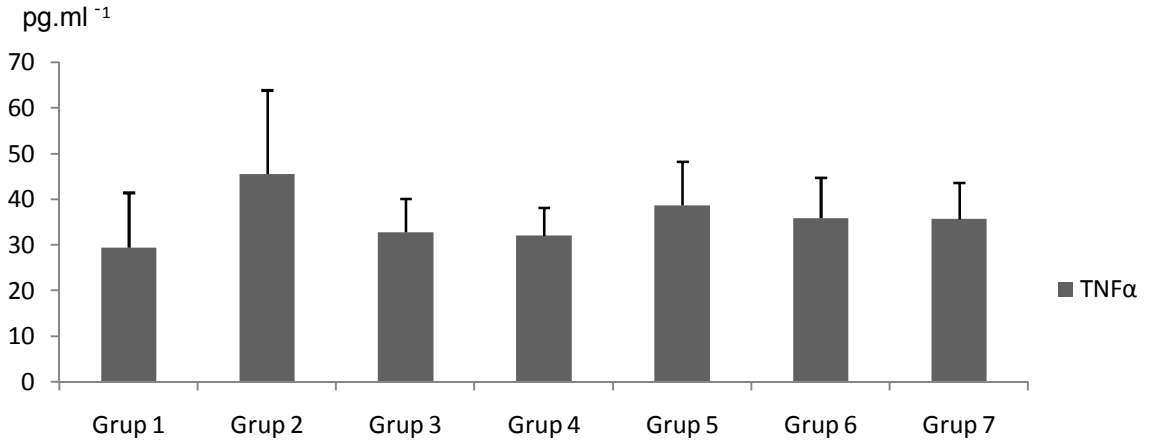
3- Ketamin uygulanan diğer gruplarda (10 mg.kg<sup>-1</sup>, 30 mg.kg<sup>-1</sup>, 60 mg.kg<sup>-1</sup>, 80 mg.kg<sup>-1</sup>) tespit edilen IL-6 değerleri kontrol grubuna göre düşük olmakla birlikte, kontrol grubu ile kıyaslandığında bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı (p>0.05).

#### 4.2 TNF- $\alpha$ Değerleri Üzerine Etkileri

TNF- $\alpha$  sonuçları gruplar arasında kıyaslandığında (p>0.05) olarak bulunmuştur. Gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmadığından ikili karşılaştırmalı testler uygulanmamıştır.

1-Kontrol grubundaki TNF- $\alpha$  seviyesi sham grubuna göre yüksek tespit edildi.

2-Ketamin uygulanan tüm gruplarda(3 mg.kg<sup>-1</sup>, 10 mg.kg<sup>-1</sup>, 30 mg.kg<sup>-1</sup>, 60 mg.kg<sup>-1</sup>, 80 mg.kg<sup>-1</sup>) TNF- $\alpha$  seviyesi kontrol grubuna göre düşük olarak bulundu (p>0.05).



Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	Grup 7
Sham	Kontrol	İ/R+3 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+10 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+30 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+60 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+80 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin

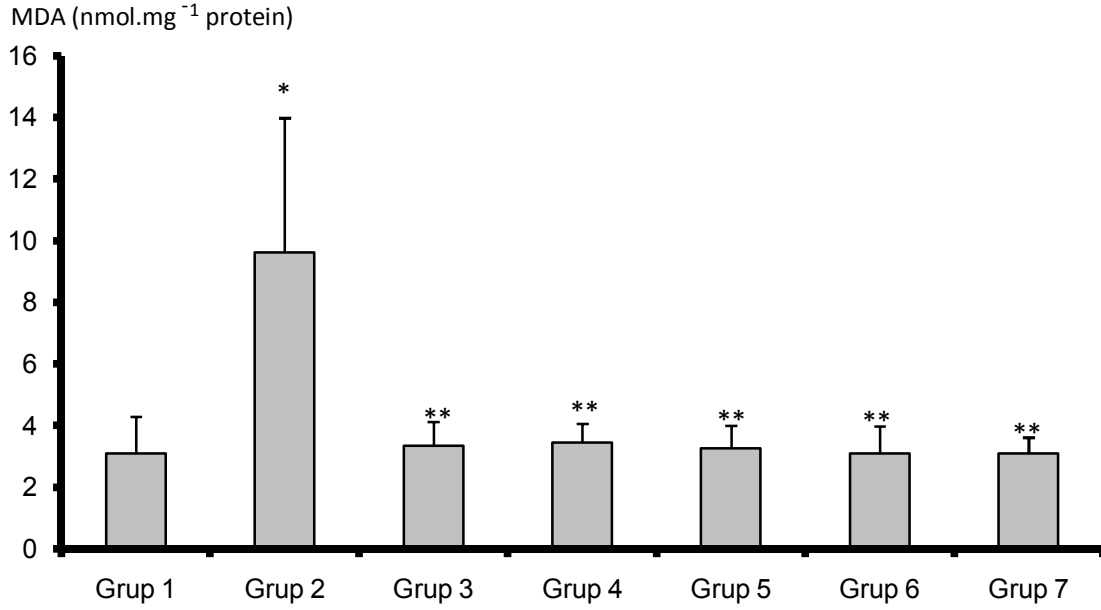
Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p>0.05).

Şekil 10. Grupların TNF- $\alpha$  değerleri



### 4.3 MDA Değerleri Üzerine Etkiler

Böbrek dokusunda tespit edilen MDA düzeyleri incelendiğinde  $2,01 \text{ nmol.mg}^{-1}$  protein ile  $17,26 \text{ nmol.mg}^{-1}$  protein arasında değişen değerler elde edildi. Ortalama MDA değerleri hesaplandığında en düşük MDA değerinin ketaminin  $80 \text{ mg.kg}^{-1}$  verildiği grupta ( $3,10 \pm 0,53 \text{ nmol.mg}^{-1}$  protein) olduğu en yüksek değer ise kontrol grubunda ( $9,61 \pm 4,37 \text{ nmol.mg}^{-1}$  protein) olduğu saptandı (tablo II, Şekil 11).



Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	Grup 7
Sham	Kontrol	i/R+3 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	i/R+10 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	i/R+30 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	i/R+60 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	i/R+80 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin

\* sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek ( $p < 0.05$ ).

\*\* kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük ( $p < 0.05$ ).

Şekil 11. Gruplarda MDA değerleri

Gruplar arasında MDA düzeyleri kıyaslandığında;

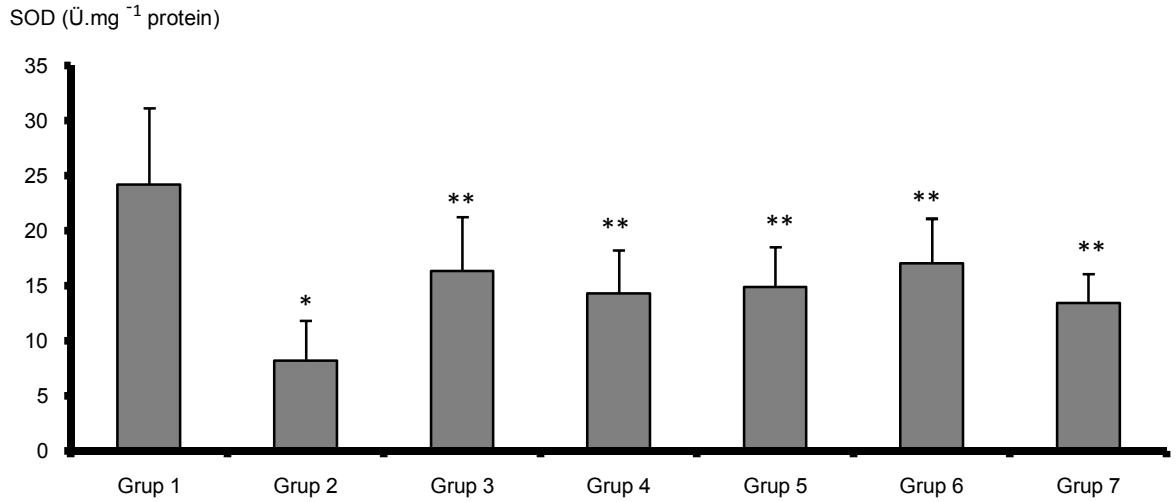
1-Kontrol grubundaki MDA seviyesi sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edildi ( $p < 0.05$ ).

2-Ketamin uygulanan tüm gruplarda ( $3 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $10 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $30 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $60 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $80 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) tespit edilen MDA değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük tespit edildi ( $p < 0.05$ ).

3-Ketamin gruplarının arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ( $p > 0.05$ ).

#### 4.4 SOD Değerleri Üzerine Etkiler

Böbrek dokusunda tespit edilen SOD aktivitesi incelendiğinde  $3,99 \text{ U.mg}^{-1}$  protein ile  $35,82 \text{ U.mg}^{-1}$  protein arasında değişen değerler elde edildi. Ortalama SOD aktivite değerleri hesaplandığında en düşük SOD değerinin kontrol grubunda ( $8,18 \pm 3,64 \text{ U.mg}^{-1}$  protein) olduğu en yüksek değer ise sham grubunda ( $24,21 \pm 6,90 \text{ U.mg}^{-1}$  protein) olduğu saptandı ( tabloII, Şekil 12).



Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	Grup 7
Sham	Kontrol	i/R+3 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	i/R+10 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	i/R+30 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	i/R+60 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	i/R+80 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin

\* sham grubuna göre anlamlı derecede düşük ( $p < 0.05$ ).

\*\* kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek ( $p < 0.05$ ).

Şekil 12. Gruplarda SOD aktivitesi

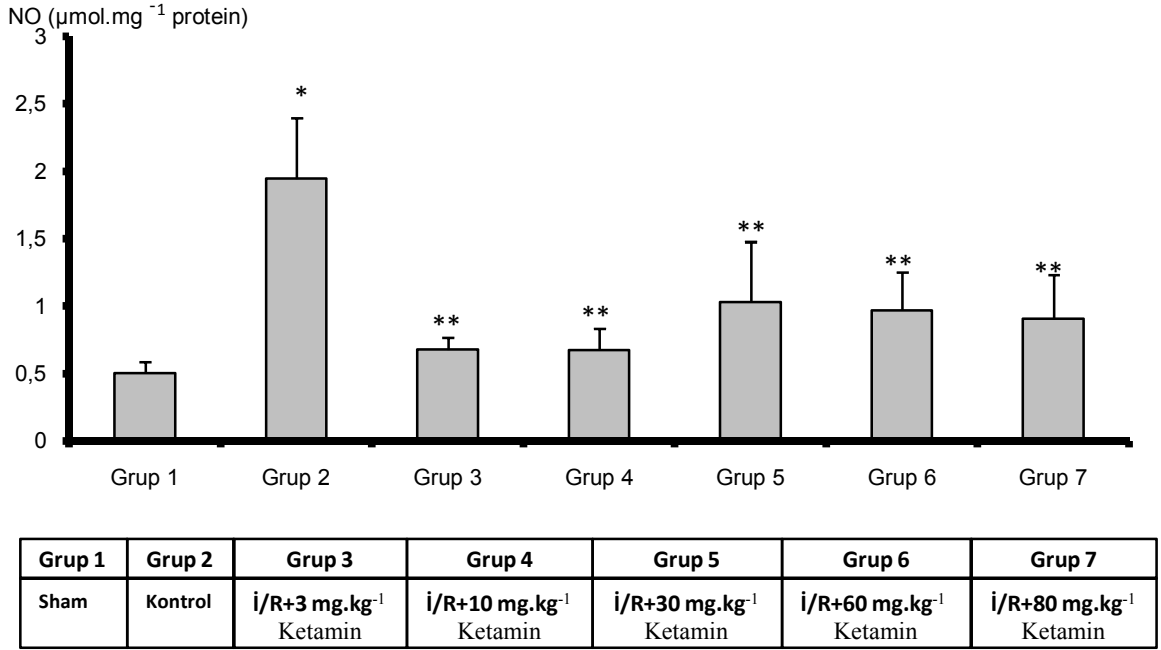
1-Kontrol grubunda SOD aktivitesi sham grubuna göre anlamlı olarak düşük tespit edildi ( $p < 0.05$ ).

2-Ketamin uygulanan tüm gruplarda ( $3 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $10 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $30 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $60 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $80 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) tespit edilen SOD aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edildi ( $p < 0.05$ ).

3-Ketamin gruplarının arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ( $p > 0.05$ ).

#### 4.5 NO Değerleri Üzerine Etkiler

Böbrek dokusunda tespit edilen NO düzeyleri incelendiğinde  $0,38 \mu\text{mol.mg}^{-1}$  protein  $2,39 \mu\text{mol.mg}^{-1}$  protein arasında değişen değerler elde edildi. Kontrol grubunda NO değerlerinin sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi. Ortalama NO değerleri hesaplandığında en düşük değerinin Sham grubunda ( $0,50 \pm 0,08 \mu\text{mol.mg}^{-1}$  protein) olduğu en yüksek değer ise kontrol grubunda ( $1,95 \pm 0,45 \mu\text{mol.mg}^{-1}$  protein) olduğu saptandı ( tablo II, Şekil 13).



\* sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek ( $p < 0.05$ ).

\*\* kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük ( $p < 0.05$ ).

Şekil 13. Graplarda NO değerleri

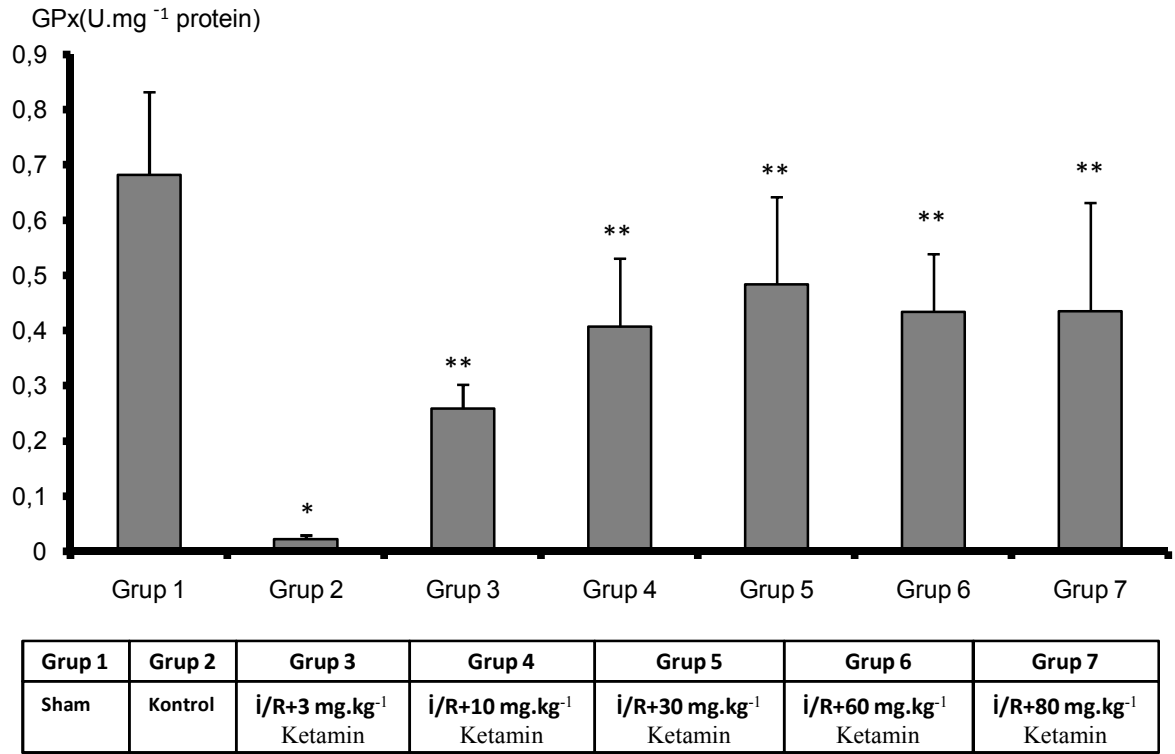
1-Kontrol grubundaki NO seviyesi sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edildi ( $p < 0.05$ ).

2-Ketamin uygulanan tüm gruplarda ( $3 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $10 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $30 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $60 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $80 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) tespit edilen NO değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük tesbit edildi ( $p < 0.05$ ).

3-Ketamin gruplarının arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ( $p > 0.05$ ).

#### 4.6 GPx Değerleri Üzerine Etkiler

Böbrek dokusunda tespit edilen GPx aktivitesi incelendiğinde  $0,01 \text{ U.mg}^{-1}$  protein ile  $0,86 \text{ U.mg}^{-1}$  protein arasında değişen değerler elde edildi. Ortalama GPx değerleri hesaplandığında en düşük GPx değerinin kontrol grubunda ( $0,02 \pm 0,01 \text{ U.mg}^{-1}$  protein) olduğu en yüksek değer ise sham grubunda ( $0,68 \pm 0,15 \text{ U.mg}^{-1}$  protein) olduğu saptandı (tabloII, Şekil 14).



\* sham grubuna göre anlamlı derecede düşük ( $p < 0,05$ ).

\*\* kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek ( $p < 0,05$ ).

Şekil 14. Deney gruplarında GPx aktivitesi

1-Kontrol grubunda GPx aktivitesi sham grubuna göre anlamlı olarak düşük tespit edildi ( $p < 0,05$ ).

2-Ketamin uygulanan tüm gruplarda ( $3 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $10 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $30 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $60 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $80 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) tespit edilen GPx aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek tesbit edildi ( $p < 0,05$ ).

3-Ketamin gruplarının arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ( $p > 0,05$ ).

## 4.7 Histopatolojik Bulgular

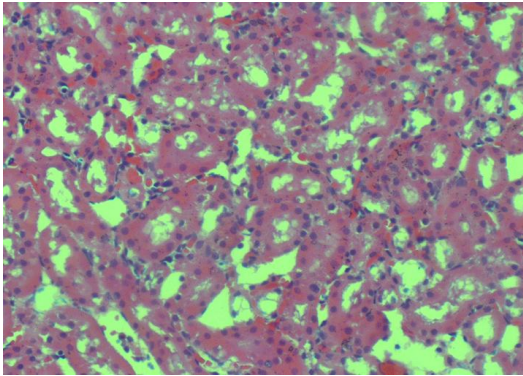
### 4.7.1 Böbrek Dokusunun Hematoksilen-Eosin İle Boyanma Özellikleri

Hematoksilen-Eosin ile boyanmış olan böbrek dokularının hiçbirinde ışık mikroskopuyla kanama, tubuler değişiklikler ve glomeruler değişiklikler izlenmemiştir. Sham grubunda konjesyon hiç izlenmemekle beraber, kontrol grubunda gözlenen konjesyon orta derece iken, ketaminin 3 mg.kg<sup>-1</sup> uygulandığı grublarda konjesyonun derecesi azalmıştır.

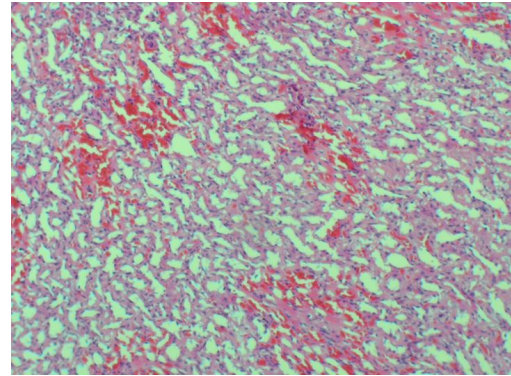
### 4.7.2 Böbrek Dokusunun H-E Skorları

Grupların histopatolojik analizinde sham grubunda hasar oluşmazken, en şiddetli hasar kontrol grubunda izlenmiştir. Böbrek dokusunun Hematoksilen-Eosin le boyanıp incelenmesi ile elde edilen skorların ortalama değerleri: Sham grubunda 0; Kontrol grubunda 2,17; Grup 3 (İR + Ketamin 3 mg.kg<sup>-1</sup>) ; 1,50 olarak saptanmıştır.

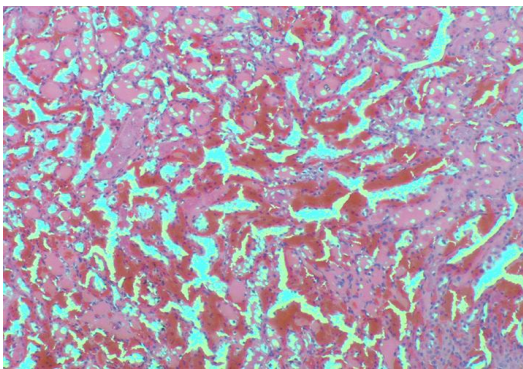
### 4.7.3 Böbrek Dokusunun H-E Skorları



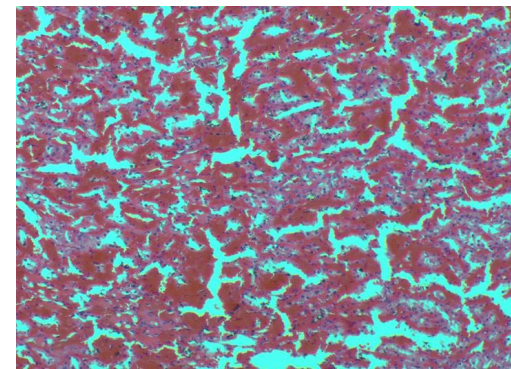
Şekil 15. Normal medüller yapı



Şekil 16. Hafif dereceli konjesyon



Şekil 17. Orta dereceli konjesyon



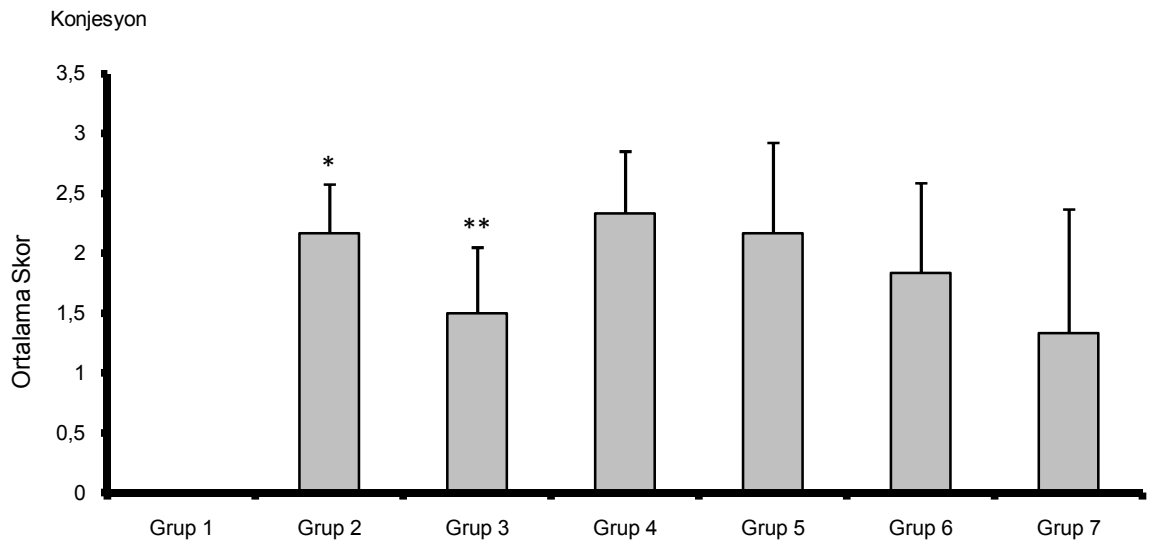
Şekil 18. Şiddetli dereceli konjesyon

Tablo III: Böbrek dokusu histopatolojik analiz sonuçları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	Grup 7
	Sham	Kontrol	İ/R+3mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+10mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+30mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+60mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+80mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin
<b>Ort. Değer ± Std. sapma</b>	0±0	2,17±0,41	1,50±0,55	2,33±0,52	2,17±0,75	1,83±0,75	1,33±1,03
<b>(Min. Maks. değer)</b>	(0-0)	(0-3)	(0-2)	(0-3)	(0-3)	(0-3)	(0-3)

\*sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek (p<0.05).

\*\* kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük (p<0.05).



Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	Grup 7
Sham	Kontrol	İ/R+3 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+10 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+30 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+60 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin	İ/R+80 mg.kg <sup>-1</sup> Ketamin

\* sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek (p<0.05).

\*\* kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük (p<0.05).

### Şekil 19. Grupların histopatolojik skorlanması

1-Kontrol grubundaki doku hasarının düzeyi sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek tesbit edildi (p<0.05).

2- Grup 3 (İR +Ketamin 3 mg.kg<sup>-1</sup>)'te doku hasarının düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük tesbit edildi (p<0.05).

3- Ketamin uygulanan diğer grupların (10 mg.kg<sup>-1</sup>, 30 mg.kg<sup>-1</sup>, 60 mg.kg<sup>-1</sup>, 80 mg.kg<sup>-1</sup>) tesbit edilen doku hasarının düzeyi ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı (p>0.05).

## 5.TARTIŞMA

Biz hayvan modeli çalışmamızda renal İRH sırasında ketaminin farklı dozlarının proinflatuar sitokinler (TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6), enzimatik antioksidanlar (SOD ve GPx) ve oksidanlar (MDA ve NO) üzerine olan etkilerini araştırdık.

Serbest radikallerin indüklediği hücre membranı makromoleküllerinin peroksidasyonu İRH'nın önemli bir elemanıdır. Lipid peroksitlerinin yıkımıyla oluşan MDA daha dayanıklı ve ölçümü daha kolay olan bir üründür.<sup>27</sup> Yun ve ark. ratlarda renal İRH'da oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu sebebi ile oluşan MDA düzeyinin arttığını göstermişlerdir.<sup>75</sup> Yine başka bir çalışmada, Singh ve ark. böbrek İRH oluşturdukları gruplarda MDA düzeyinde artış tespit etmişlerdir.<sup>74</sup> Sakamoto ve ark. ise İRH'da organ fonksiyonunun değerlendirilmesinde MDA'nın spesifitesi ve sensitivitesinin olmadığını belirtmişlerdir.<sup>76</sup> Salman ve ark. akut kas İRH'da 1 mg.kg<sup>-1</sup>dk<sup>-1</sup> hızında 10 dakika ketamin infüzyonu yapılan grupta MDA düzeyinin İR grubuna göre belirgin bir şekilde düşük olduğunu göstermişlerdir.<sup>76</sup> Sarıcaoğlu ve ark. turnike altında artroskopik diz ameliyatı yapılan hastalarda, sedatif dozda (0,5 mg.kg<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>) verilen ketaminin sinoviyal membran numunelerindeki MDA ve İRH'nın başka bir göstergesi olan hipoksantin düzeylerini düşürdüğünü tespit edilmiştir.<sup>77</sup> Bizim yaptığımız bu çalışmada da, kontrol grubunda böbrek dokusunda MDA seviyeleri belirgin şekilde yüksek seyretmekte iken ketamin uyguladığımız bütün gruplarda (3 mg.kg<sup>-1</sup>, 10 mg.kg<sup>-1</sup>, 30 mg.kg<sup>-1</sup>, 60 mg.kg<sup>-1</sup>, 80 mg.kg<sup>-1</sup>) böbrek dokusu MDA seviyelerinin kontrol grubundan belirgin şekilde düşük olduğu bulundu (p<0,05). Ketamin uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (p>0,05).

Organizmanın prooksidan-antioksidan dengesi sağlıklı bir yaşam sürdürebilmek için çok önemlidir. Organizma İ/R sonrası oluşan SOR'a karşı kendisini antioksidan enzim sistemi ile savunur. Bu enzimler İRH ile dokuda biriken serbest oksijen radikallerinin detoksifikasyonunda görevlidir. Antioksidan enzimlerden SOD, katalaz, GPx, İ/R ile oluşmuş radikallerin detoksifikasyonunda rol oynarlar. Bu enzimlerin seviyelerinin ölçümü serbest radikal aracılı hasar konusunda indirek bilgi verir. Böbrek İRH'nın araştırıldığı tüm farklı çalışmalarda, İ/R oluşturulan gruplarda SOD, GPx ve katalaz aktivitelerinde azalma gözlemlenmiştir.<sup>78, 79</sup> Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara benzer olarak İ/R uyguladığımız kontrol grubunda sham grubuna kıyasla SOD ve GPX aktivitelerinin azaldığı gösterildi. Ketamin uyguladığımız tüm

gruplarda SOD ve GPx aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunurken ( $p<0.05$ ), ketamin gruplarının arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ( $p>0.05$ ).

Ketaminin, farelerde aktive makrofaj benzeri hücrelerinde NO üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir. Özmen ve ark. ratlarda artmış intra abdominal basıncın sitokinler, CRP, SOR ve doku histolojisi üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada iskemi grubunda kontrol grubuna göre IL-6 seviyelerinde belirgin olarak artış tespit etmişlerdir. Yine bu çalışmada karın içi basıncın artış derecesiyle paralel olarak serum NO ve MDA düzeylerinin yükselmiş olduğunu bulmuşlardır. Doku travmasının gelişme nedenini; IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinler tarafından iNOS'un indüksiyonu sonucu NO'nun aşırı üretimi olduğunu ifade etmişlerdir.<sup>80</sup> Dikmen ve ark. tek taraflı tam ureter obstrüksiyonundaki renal hasar oluşturdukları deneysel çalışmada; iNOS ve eNOS ifadesindeki anlamlı artışa doku NO düzeylerindeki yüksekliğin eşlik ettiğini göstermişlerdir.<sup>81</sup> Bizim çalışmamızda kontrol grubundaki NO seviyesi sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek tesbit edildi ( $p<0.05$ ). Ketamin uygulanan tüm gruplarda tespit edilen NO değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunurken ( $p<0.05$ ), ketamin gruplarının arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ( $p>0.05$ ).

Sitokinler, inflamasyona cevap olarak başlıca nötrofil, makrofaj, endotel hücrelerinden sentez edilen proteinlerdir. TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6 gibi sitokinler proinflamatuvar sitokinler olarak bilinir ve inflamatuvar değişikliklerin oluşmasında rol alırlar. İ/R'nin kompleman sistemini aktivasyonu sonucu oluşan proinflamatuvar komponentler, bir yandan lökositleri aktive ederken diğer yandan TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6 oluşumunu uyararak inflamatuvar cevabı güçlendirir. Ketaminin özellikle sepsisli hastalarda proinflamatuvar sitokinlerin salınımını baskıladığı gösterilmiştir.<sup>11, 49</sup>

Ketaminin 0,25 mg.kg<sup>-1</sup> dozunda koroner bypass greftlemesinde, in vitro ve in vivo şartlarda, nötrofil inhibisyonu yaptığı ve nötrofil kaynaklı SOR'u azalttığı gösterilmiştir.<sup>17, 82</sup> Benzer olarak, 10-20  $\mu$ M ketaminin kobay kalbinde nötrofillerin iskemi-reperfüzyon esnasındaki adhezyonunu azaltmıştır.<sup>83</sup> Dahası sıçan mezenterinde ketaminin nötrofil adhezyonunu inhibe ettiği gösterilmiş ve bu etkinin sitokinle aktive edilen adhezyon molekülü olan E-selektinin süpresyonu yoluyla olduğu iddia edilmiştir.<sup>84</sup> Darendelioğlu ve ark. ekstremitelerde İRH ile ilgili çalışmasında ketaminin (2,5 mg.kg<sup>-1</sup>, 10 mg.kg<sup>-1</sup>, 30 mg.kg<sup>-1</sup>) dozlarında uygulamışlar ve tüm ketamin



gruplarında GPx ve SOD düzeylerini arttırma, MDA düzeylerinde azalma tespit etmişlerdir. Ancak en belirgin etkilerin ketaminin subanestezik dozlarında uygulandığı gruplarda izlendiğini ifade etmişlerdir.<sup>85</sup>

Ketamin endotoksik şokta lipid peroksidasyonunun indüklediği TNF- $\alpha$  üretimini baskılamaktadır. Kawasaki ve ark. ketaminin insan tam kanında proinflamatuvar sitokinleri baskılayıcı etkisini araştırdıkları çalışmada ketaminin 0-500  $\mu$ M arasındaki farklı dozlarda lipopolisakkaritin indüklediği IL-8, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin seviyelerini direkt azalttığını göstermişlerdir.<sup>3</sup>

Gündoğdu ve ark. karaciğer İ/R hasarında ketaminin doz bağımlı antiinflamatuvar etkisini araştırdıkları çalışmada; ketaminin NF-kb inhibisyonu ile IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini baskılayıcı etkisinden yola çıkarak, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  düzeylerinin İ/R sonrası tüm gruplarda arttığını saptamışlardır. Bu artışların kontrol grubuna göre İRH sonrası 2,5 mg.kg<sup>-1</sup> ve 10 mg.kg<sup>-1</sup> ketamin verilen gruplarda daha az olduğunu ve ketaminin antiinflamatuvar etkisinin doza bağımlı olduğunu göstermişlerdir.<sup>86</sup> Roytblat ve ark. elektif KABG cerrahisinde 0,25 mg.kg<sup>-1</sup> ketaminin genel anestezide ilavesinin IL-6 düzeyine etkisini araştırdıkları çalışmada IL-6 seviyelerini suprese ettiğini göstermiştir.<sup>87</sup> Bizde çalışmamızda da ketaminin 3 mg.kg<sup>-1</sup> dozunda IL-1 ve IL-6 seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük tespit edildi(p<0.05).

Bizim çalışmamızda TNF- $\alpha$  sonuçları gruplar arasında kıyaslandığında kontrol grubundaki TNF- $\alpha$  seviyesi sham grubuna göre yüksek bulunurken, ketamin uygulanan tüm gruplarda TNF- $\alpha$  seviyesi kontrol grubuna göre düşük olarak bulundu. Ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (p>0.05).

İntraoperatif hemoraji sonrası ratlarda renal doku hasarı üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada, 15 mg.kg<sup>-1</sup> İM ketamin uygulanan grupta rat böbreğinde daha yüksek skorlu histolojik değişikliklerle birlikte olduğu gösterilmiş olup bu sonuçların ketamin semptomimetik etkisi sonucu artmış kan katekolamin konsantrasyonlarıyla ilgili olabileceği bildirilmiştir.<sup>88</sup> Yüzer ve ark. İV anesteziklerin böbrek İRH'ya etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 60 mg.kg<sup>-1</sup> ketamin uygulanan sham gruplarında İRH oluştuğunu tespit etmişlerdir.<sup>89</sup> Shamda grubunda da hasar oluşması ketaminin dozu ile ilişkili olabilir. Bizim çalışmamızdaki grupların doku histopatolojik analizinde kontrol grubundaki doku hasarının düzeyi sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edildi (p<0.05). 3 mg.kg<sup>-1</sup> ketamin uygulandığında doku hasarının düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük tespit edildi (p<0.05). Ketamin uygulanan diğer

gruplarda ( $10 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $30 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $60 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $80 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) tespit edilen doku hasarının düzeyi ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ( $p>0.05$ ).

Ketamin ( $0,25 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) dozunda uygulandığında ratlarda nötrofil adhezyonunu ve migrasyonunu doz bağımlı olarak engellediği gösterilmiştir. Özellikle sepsisli hastaların anestezi indüksiyonunda kullanıldığında ketamin, Lipid peroksidasyonunun indüklediği proinflamatuvar sitokin salınımını ( $\text{TNF-}\alpha$ , IL-1 ve IL-6) baskılamaktadır. Nötrofilin SOR üretimini inhibe ettiği in vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Ketamin nötrofilin  $\text{TNF-}\alpha$  üretimini de baskılayarak endotoksine bağlı hücre bütünlüğünün bozulmasını engellediği de ileri sürülmektedir.<sup>3,11, 79,87</sup>

Deneysel olarak oluşturduğumuz İRH, klinikte majör kardiyovasküler cerrahi, böbrek transplantasyonu uygulanan hastalarda veya şiddetli travma, kanama, sepsis gibi klinik durumlara gelişebilmektedir.<sup>23</sup> Kalp debisinin azaldığı veya hipovolemi oluşan klinik durumlarda baroreseptörleri aktive olur. Nörohormonal cevabın uyarılması ile renin anjiyotensin aldosteron sistemi (RAS) aktive eder. Sempatik sinir sistemi de aktive olur ve vazopresin salgılanması artar. Afferent ve efferent arteriyollerde vasküler rezistans artar. Glomerüler plazma akımı % 30-50 oranında azalır. Katekolaminlerin, anjiyotensin II'nin (AT-II) ve endotelinin seviyeleri artar. Bunun sonucunda vazokonstriksiyon gelişir. Oluşan preglomerüler vazokonstriksiyon GFR'nin azalmasındaki en önemli sebep olarak gözükmektedir.<sup>6,24</sup>

Daha önce yapılmış çalışmalarda çok farklı böbrek İRH modeli bulunmaktadır. Ratlara uygulanan iskemi süresi, reperfüzyon süresi, tek böbrekte ya da her iki böbrekte iskemi gibi birçok değişken parametreler mevcuttur. Literatürdeki çalışmaların deney modelleri incelendiğinde bizim çalışmamızda tek böbreğe uyguladığımız 60 dakika iskemi, 60 dakika reperfüzyon süresinin, böbrekte oluşacak İ/R hasarını biyokimyasal ve histopatolojik olarak göstermesi açısından yeterli olduğu gösterilmiştir.<sup>74</sup>

Tüm bu bulgularla; mevcut İ/R modeli ile deneysel olarak böbrek dokusunda hasar gelişir. Ketamin uygulanması ile böbrek dokusundaki oksidan sistemin belirteçlerinde (MDA, NO) ve plazmada proinflamatuvar sitokinler ile (IL-1, IL-6,  $\text{TNF-}\alpha$ ) kontrol grubuna göre daha az artış, antioksidan sistem belirteçlerinde (SOD, GPx) daha az düşme olduğunu tespit ettik. Ek olarak ketaminin ( $10 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $30 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $60 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $80 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) uygulandığı gruplarda kontrol grubuna göre böbrek dokusunda SOD ve GPx değerlerinde artma, MDA ve NO düzeylerinde anlamlı derecede azalma tespit ettik ( $p<0.05$ ). Bu gruplarda kontrol grubuna göre hem IL-1, IL-6 ve  $\text{TNF-}\alpha$

düzeylei hem de histopatolojik olarak doku hasarı düzeylei arasında anlamlı bir fark bulamadık ( $p>0.05$ ).

Ketamin  $3 \text{ mg.kg}^{-1}$  dozunda uygulandığı grupta kontrol grubuna göre böbrek dokusunda SOD ve GPx değerlerinde artış, MDA ve NO düzeylelerinde azalma, plazma proinflatuar sitokinlerin (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) azalma ile histopatolojik olarak doku hasarı düzeylei arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı olarak saptandı ( $p<0.05$ ). Bu bulgularımız sonucunda ketaminin antioksidan özelliğinin dozla ilişkili olup, düşük dozlarda elde edilen antioksidan özelliğinin yeterli olduğu ve daha yüksek dozlarda bu etkinin anlamlı derecede artmadığı görülmüştür. Hatta yüksek dozlarda ketamin semptomimetik etkisi sonucu artmış kan katekolamin konsantrasyonlarıyla ilgili olarak zararlı olabileceğini, bu nedenle böbrekte İ/R hasarında ketaminin  $3 \text{ mg.kg}^{-1}$  dozunda kullanılabileceği, daha yüksek dozlara gerek olmadığı kanaatindeyiz.

## 6- SONUÇLAR

1- Kontrol grubunda, sham grubuna kıyasla proinflamatuvar, histokimyasal ve histopatolojik tablo açısından belirgin şekilde kötü bulundu (  $p<0.05$ ). Bu durum, uyguladığımız modelle böbrekte İRH oluştuğunu göstermektedir.

2- Ketamin  $3 \text{ mg.kg}^{-1}$  dozunun uygulandığı grup kontrol grubuna kıyasla; proinflamatuvar, histokimyasal ve histopatolojik tablo açısından belirgin bir şekilde iyi bulundu (  $p<0.05$ ). Bu durum ketaminin  $3 \text{ mg.kg}^{-1}$  dozunda ratlarda oluşan böbrek İ/R hasarını önlemek için yeterli olduğunu gösterir.

3- Ketamin uygulanan diğer gruplarda ( $10 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $30 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $60 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $80 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) kontrol grubuna kıyasla; histokimyasal olarak anlamlı düzelme sağlansada, hem proinflamatuvar hemde histopatolojik tablo açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (  $p>0.05$ ). Bu olumsuz sonuçlar ketaminin bu dozlardaki semptomimetik etkisi sonucu artmış kan katekolamin konsantrasyonlarıyla ilgili olabilir.

4- Ketamin uygulanan tüm gruplar ( $3 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $10 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $30 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $60 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $80 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) arasında, proinflamatuvar, histokimyasal ve histopatolojik tablo açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır (  $p>0.05$ ). Bu durum;  $3 \text{ mg.kg}^{-1}$  ketaminin ratlarda oluşan böbrek İ/R hasarını azaltmak için dozunda yeterli olduğunu daha yüksek dozların gerekmediğini göstermektedir.<sup>76</sup>

## KAYNAKLAR

1. Rangan U, Bulkley G. Prospects for Treatment of Free Radical-Mediated Tissue Injury. *Br Med Bull.* 1993; **49**(3): 700-18.
2. Weseler AR, Bast A. Oxidative Stress and Vascular Function: Implications for Pharmacologic Treatments. *Current Hypertension Reports.* 2010(12):154-61.
3. Kawasaki T, Ogata M, Kawasaki C, et al. Ketamin Suppresses Proinflammatory Cytokine Production in Human Whole In Vitro. *Anesth Analg.* 1999; **89**: 665-9.
4. Kandilci HB, Gümüşel B. Akciğerlerde İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve İskemik Önkoşullama. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi.* 2005; **25**: 35.
5. Şener G, Yeğen BÇ. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi.* 2009; **22**:5-13.
6. Koç M, Arıkan H, Odabaşı Z. İskemik ve Toksik Akut Tübüler Nekroz Patofizyolojisi. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 2006; **15**(1): 13-24.
7. Önal A, Astarçioğlu H, Örmen M, ve ark. The Beneficial Effect of L-Carnitine in Rat Renal Ischemia-Reperfusion Injury. *Turkish Journal of Trauma and Surgery.* 2004; **10**(3): 160-7.
8. Yousefipour Z, Oyekan A, Newaz M. Interaction of Oxidative Stress, Nitric Oxide and Peroxisome Proliferator Activated Receptor  $\gamma$  in Acute Renal Failure. *Pharmacology and Therapeutics.* 2010; **125**: 436-45.
9. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimoza Yayınları, Konya.* 1995; **35**(5):32-73.
10. Teke Z, Kabay B, Özden A. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Patofizyolojisi. *Pamukkale Tıp Dergisi.* 2008; **1**: 65-72
11. Başgül E, Çeliker V. Yeniden Güncellenen Bir İlaç: Ketamin. *Anestezi Dergisi.* 2004; **12**(1): 7-15.
12. Aksoy Y. Antioksidan Mekanizmada Glutasyonun Rolü. *Türkiye Klin Tıp Bilimleri.* 2002; **22**: 442-8.
13. Arai K, Lee F, Miyajima A, et al. Cytokines: Coordinators of Immune and Inflammatory Responses. *Annual Review of Biochemistry.* 1990; **59**(1): 783-836.
14. Cotran R: Hücre Zedelenmesi Adaptasyon. *Basic Pathology.* Cotran R, Kumar V, Robbins S. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri. 1994; **1**: 3 -11.
15. Taşkıran A, Eskiocak S, Çıkrıkçıoğlu M. Koroner Arter Bypass Cerrahisi Öncesindeki Plazma Total Antioksidan Kapasite Düzeylerinin İskemi-Reperfüzyon Hasarı ile İlişkisi. *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 2005; **22**(1): 16-22.
16. Akkoç H. Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Dicle Tıp Dergisi.* 2008; **35**(3): 211-5.
17. Zilberstein G, Levy R, Rachinsky M. Ketamine Attenuates Neutrophil Activation After Cardiopulmonary Bypass. *Anesth Analg.* 2002; **95**: 531-6.
18. Saba D, Yavuz H, Şenkaya I, ve ark. Kalsiyum Deboşlatım İskelet Kası İskemi-Reperfüzyon Hasarındaki Rolü. *Turkish J Thorac and Cardiovasc Surg.* 2000; **8**: 797-801.
19. Kuzey GM. Hüresel Patoloji. *Temel Patoloji.* Özdamar ŞO, Zergeroğlu S. İstanbul. Güneş Kitabevi 2007; **1**: 9-29.
20. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological Aspects of Active Oxygens /Free Radicals. *Japanese J Physiol.* 1996; **46**(1): 15-32.
21. Weight SC, Bell PRF, Nicholson ML. Renal Ischaemia-Reperfusion Injury. *British Journal of Surgery.* 1996; **83**: 162-70.
22. Dobashi K, Shing I, Orak J. Combination Therapy of N-Asetylcysteine, Sodyum Nitroprussit and Phosforamidon Attenuates Ischemia Reperfusion Injury in Rat Kidney. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 2002; **240**: 9-17.
23. Brady HR BB. Acute Renal Failure. *Harrison's Principles of Internal Medicine* Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL (ed). The McGraw-Hill Companies. Ondördüncü baskı. USA, 1998; S.1504-13.

24. Lameire N, Vanholder R. Pathophysiology of Ischaemic Acute Renal Failure. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*. 2004; **18**(1): 21-36.
25. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen Free Radicals in Ischemic Acute Renal Failure in the Rat. *J Clin Invest*. 1984; **74**: 1156-64.
26. Ichikawa I, Kiyama S, Yoshioka T. Renal Antioxidant Enzymes: Their Regulation and Function. *Kidney Int*. 1994; **45**(1): 1-9.
27. Erden M. Serbest Radikaller. *T Klin Tıp Bilimleri Journal of Medical Sciences*. 1992; **12**: 201-7.
28. Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *YYÜ Vet Fak Derg*. 2004; **15**(1-2): 91-6.
29. Stadler M, Nuyens V, Boogaerts JG. Intralipid Minimizes Hepatocytes Injury After Anoxia-Reoxygenation in An Ex Vivo Rat Liver Model. *Nutrition*. 2007; **23**(1): 53-61.
30. Kavas GÖ. Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 1989; **9**(1): 1-8.
31. Gutteridge JMC. Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. *Clinical Chemistry*. 1995; **41**(12): 1819-28.
32. Slater TF. Free-Radical Mechanisms in Tissue Injury. *Biochemical Journal*. 1984; **222**(1): 1-15.
33. Hintze TH. Prologue: Nitric Oxide-Hormones, Metabolism, and Function. *American Journal of Physiology- Heart and Circulatory Physiology*. 2001; **281**(6): 2253-5.
34. Marino PL. Oksidan Hasarın Tedavisi. *Yoğun Bakım Kitabı. İkinci Baskı. İstanbul. Logos Tıp Yayıncılığı* 2002; **1**:16-24
35. Shaw CA, Webb DJ, Rossi AG, et al. Cyclic GMP Protects Human Macrophages Against Peroxynitrite-Induced Apoptosis. *Journal of Inflammation*. 2009; **6**(14): 1-10.
36. Murrell G, Francis M, Bromley L. Modulation of Fibroblast Proliferation by Oxygen Free Radicals. *Biochemical Journal*. 1990; **265**(3): 659.
37. Nordberg J, Arner E. Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radic Biol Med*. 2001; **31**: 1287– 1312.
38. Şimşek F. Free Radicals, Antioxidants and Lipid Peroxidation. *T Klin J Pediatri*. 1999; **8**: 42-7.
39. Karataş F, Aşkın U, Halifeoğlu İ, ve ark. Guatrlı Hastalarda Antioksidan Vitaminler(A, E ve C), Selenyum ve Glutatyon Peroksidaz ( GSH-Px) Düzeylerinin Araştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2006; **20**(4): 277-80.
40. Çelikezen FÇ, Ertekin A. Ratlarda Akciğer Fibrozisinde Lipid Peroksidasyonu (MDA), Antioksidan Madde (Glutatyon, Seruloplazmin) ve Bazı Antioksidan Vitamin (β-Karoten, Retinol) Düzeylerinin İncelenmesi. *YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2008; **2**: 17-20.
41. Sapmaz E, İlhan N, Altungül A, ve ark. Comparison of Melatonin and Oxytetracycline as Antioxidants in Autologous Intra-Peritoneal Transplantation of The Ovary in Rats. *T Klin J Gynecol Obst*. 2003; **13**: 141-5.
42. Padanilam BJ. Cell Death Induced by Acute Renal Injury: a Perspective on The Contributions of Apoptosis and Necrosis. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2003; **284**: 608-27.
43. Sekhon CS, Sekhon BK, Singh I, et al. Attenuation of Renal Ischemia/Reperfusion Injury by a Triple Drug Combination Therapy. *Journal of Nephrology*. 2003; **16**(1): 63-74.
44. Eşrefoğlu M. Cell Injury and Death:Oxidative Stres and Antioxidant Defense System. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2009; **29**(6): 1660-76.
45. Nauta RJ, Tsimoyiannis E, Uribe M, et al. The Role of Calcium Channel Entry Blockers in Experimental Ischemia-Reperfusion Induced Liver Injury. *Ann Surg*. 1991; **213**(2): 137-42
46. Lien Y-HH, Lai LW, Silva AL. Pathogenesis of Renal Ischemia/Reperfusion Injury: Lessons From Knockout Mice. *Life Sciences*. 2003; **74**: 543-52.

47. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB. Ischemia/Reperfusion Injury. *Journal of Surgical Research*. 2002; **105**(2): 248-58.
48. Grace P. Ischaemia-Reperfusion Injury. *British Journal of Surgery*. 1994; **81**(5):637-47.
49. Lin E, Lowry SF, Calvano SE. The Systemic Responses to Injury. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. The McGraw-Hill Companies. Yedinci baskı. USA. 1999; **1**:13-32.
50. Özmen N, Cebeci BS, Kardeşoğlu E. Kalp Yetersizliğinde İnflamatuvar Göstergeler. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi*. 2006; **6**:51-4
51. Watanabe Y, Morita M, Ikematsu N, et al. Tumor Necrosis Factor and Interleukin-1 But Not Interferon Induce Vascular Cell Adhesion Molecule-1 Expression on Primary Cultured Murine Hepatocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1995; **209**(1): 335-42.
52. Aydınтуğ O. Sitokinler. Tokgöz G. *Klinik İmmünoloji*. 1. Baskı. Ankara. Antıp Yayınları 1997: 85-100.
53. Kılıçturgay K. İmmunolojiye Giriş. 3. Baskı. Bursa. Güneş & Nobel Tıp Kitapevleri 1994:128-37.
54. Aggarwal BB, Kohr WJ, Hass PE. Human Tumor Necrosis Factor. *The Journal of Biological Chemistry*. 1992; **260**: 2345-52.
55. Aggarwal BB, Kohr WJ, Hass PE, et al. Tumor Necrosis Factors Receptor Associated Signalling Molecules and Their Role in Activation of Apoptosis, JNK and NF-kB. Production, Purification, and Characterization. *Ann Rheum Dis*. 2000; **59**(1): i6-i16
56. Andus T, Bauer J, Gerok W. Effects of Cytokines on The Liver. *Hepatology*. John Wiley & Sons; 1991; **13**(2): 364-75.
57. Baykal Y. Antiinflamatuvar Sitokinler. *GATA Bülteni*. 1998; **40** : 113-7
58. Saraçoğlu A. Ketamin: Popüler Bir Keyif Verici İlaç. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*. 2005; **25**(3): 429-35.
59. White PF, Ham j, Way WL, et al. Pharmacology of Ketamine Isomers in Sugical Patients. *Anesthesiology*. 1980; **52**:231-9.
60. Kayhan Z. İntravenöz anestezipler. *Klinik Anestezi*. 3. baskı. İstanbul. Logos Yayıncılık 2004; **3**: 99-119.
61. Morgan GE, Mikhail MS, Murray MJ. Nonvolatile Anesthetic Agents. *Clinical Anesthesiology*. Üçüncü baskı. Güneş Kitabevi 2004: 169-72.
62. Collins JV. Epidural Anaesthesia. *Principles of Anaesthesiology*. 1993: 734- 87, 1341, 571,610.
63. Tüzüner F. İntravenöz Anestezipleri ve Verilim Sistemleri. *Anestezi Yoğun Bakım Ağrı*. Ankara. Nobel Tıp Kitabevleri 2010: 181-224.
64. Miller RD. *Millers Anesthesia*. 5. Baskı. Philadelphia Pennsylvania. Churchill Livingsstone 2000: 1491-520.
65. Larsen R. *Anaesthesie*. 5. Auflage München-Wien-Baltimore, Urban und Schwarzenberg 1995: 221-245
66. Badrinath S, Avramov MN, Shadrack M, et al. The Use of a Ketamine-Propofol Combination During Monitored Anesthesia Care. *Anesth Analg*. 2000; **90**: 858-62.
67. Tanaka M, Sato M. Reevaluation of Rectal Ketamine Premedication in Children: Comparison with Rectal Midazolam. *Anesthesiology*. 2000; **93**: 1217-24.
68. Alderson PJ, Lerman J. Oral Premedication for Paediatric Ambulatory Anaesthesia: A Comparison of Midazolam and Ketamine. *Can J Anaesth*. 1994; **41**: 221-6.
69. Fridovich I. Superoxide Radical: an Endogenous Toxicant. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1983; **23**: 239 -57.
70. Beutler E. Red Cell Metabolism. *A Manual of Biochemical Methods*. New York: Grune and stratton Inc; 1975; 265-276
71. Okawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Anal Biochem*. 1979; **95**: 351 -8.

72. Lowry O, Rosebrough N, Farr A, et al. Protein Measurement With the Folin Phenol Reagent. *J Biol Chem.* 1951; **193**: 265-75.
73. Cortas N, Wakid N. Determination of Inorganic Nitrate in Serum and Urine by Akinetic Cadmium Reduction Method. *Clin Chem.* 1990; **36**: 1440-3.
74. Singh D, Chopra K. Effect of Trimetazidine on Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Rat. *Pharmacol Res* 2004; **50**: 623 -9.
75. Yun Y, Duan W, Chen P, et al. Ischemic Postconditioning Modified Renal Oxidative Stres and Lipid Peroxidation Caused by Ischemic Reperfusion Injur in Rats. *Transplantation Proceeding.* 2009; **41**: 3597-602.
76. Salman AE, Dal D, Salman MA, ve ark. The Effect of Ketamine on Acute Muscular Ischaemia Reperfusion in Rats. *European Journal of Anaesthesiology.* 2005; **22**: 712-6.
77. Sarıcaoğlu F, Dal D, Salman EA. Ketamine Sedation During Spinal Anesthesia for Arthroscopic Knee Surgery Reduced the Ischemia-Reperfusion Injury Markers. *Anesth Analg.* 2005; **101**: 904-9.
78. Singh I, Gulati S, Orak J, al e. Expression of Antioxidant Enzymes in Rat Kidney During Ischemia-Reperfusion Injury. *Molecular and Cellular Biochemiyst.* 1993; **125(2)**: 97-104
79. Ozan E. Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarında Antioksidan Olarak Prostaglandin E1 Kullanımının İncelenmesi: Deneysel Çalışma. *Fırat Tıp Dergisi.* 2004; **9(3)**: 67-71.
80. Ozmen M, Zulfikaroglu B, Col C, et al. Effect of Increased Abdominal Pressure on Cytokines. (IL1,IL6,TNF),C-Reaktive Protein (CRP), Free radikals. (NO, MDA), and Histology. *Surgical Laparoscopy Endoscopy & Percutaneous Tech.* 2009; **19**: 142-7.
81. Dikmen B, Yağmurdur H, Akgül T, ark. v. Propofol ve Ketaminin Tek Taraflı Tam Üreter Obstrüksiyonunda Renal Hasar Üzerine Koruyucu Etkisi. *TARDD.* 2009; **37**: 1-2.
82. Weigand MA, Schmidt H, Zhao Q, et al. Ketamine Modulates The Stimulated Adhesion Molecule Expression on Human Neutrophils In Vitro. *Anesth Analg.* 2000; **90**: 206-12.
83. Szekely A, Heindl B, Zahler S, et. al. Nonuniform Behavior of Intravenous Anesthetics on Postischemic Adhesion of Neutrophils in The Guinea Pig Heart. *Anesth Analg.* 2000; **90(6)**:1293 -1300
84. Miller L, Morita Y, Rangan U. Supression of Cytokine- İnduced Neutrophil Accumulation in Rat Mesenteric Venules in Vivo by General Anesthesia. *Int J Microcirc Clin Exp.* 1996; **16(3)**: 147-54.
85. Darendelioğlu S. Ketamin, Propofol ve Etomidatın Çizgili Kas İskemi-Reperfüzyon Hasarı Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması. Lisans Üstü Tez, Kahramanmaraş Sütçüimam Üniversitesi Tıp Fakültesi. Kahramanmaraş. 2008.
86. Gündoğdu Z, Öner F, Yıldızhan Ö, ve ark. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Hasarında Ketaminin Doz Bağımlı Antiinflamatuvar Etkisi. *TARDD.* 2009; **37**: 4-5.
87. Roytblat J TD, Rachinsky M, et al. Ketamine Attenuates the Interleukin-6 Response After Cardiopulmonary Bypass. *Anesthesia Analgesia.* 1998; **87**: 266-7.
88. Neto ER, Vianna PTG, Viero RM, et al. Influence of S(+)-Ketamine Analgesia in Renal Intraoperative Ischemia. *Histological Study in Rats, Acta Cir Bras.* 2006; **21(4)**: 242-6.
89. Yüzer H, Yuzbasioglu M, Ciralik H. Effects of Intravenöz Anesthetics on Renal Ischemia/Reperfusion Injury. *Renal Failure.* 2009; **31(4)**: 290-6.