

**T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**KETAMİN, TİYOPENTAL, PROPOFOL, ETOMİDAT VE İNTRALİPİDİN BÖBREK  
İSKEMİ REPERPÜZYON HASARINA ETKİLERİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**YRD. DOÇ. DR. M. FATİH YÜZBAŞIOĞLU**

**DR. HÜSAMETTİN YÜZER**

**UZMANLIK TEZİ**

**KAHRAMANMARAŞ/2008**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana emeği geçen ve her zaman olduğu gibi bu çalışma sırasında desteklerini eksik etmeyen hocalarım Prof. Dr. İlhami Taner KALE'ye, Prof. Dr. Fikret EZBERCİ'ye ve Doç. Dr. Ertan BÜLBÜLOĞLU'na teşekkür ederim.

Bu çalışmanın her aşamasında sabırla destek olan ve yol gösteren değerli hocam ve tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Fatih YÜZBAŞIOĞLU'na teşekkür ederim.

Yine bu çalışma sırasında emeklerini ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Harun ÇIRALIK'a, Öğr. Gör. Dr. Ergül Belge KURUTAŞ'a ve Dr. Yalçın ATLI'ya teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım ve uzmanlık eğitimim süresi boyunca beraber çalıştığımız tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince her türlü sıkıntımı paylaşan, büyük bir özveriyle bana destek olan aileme ve sevgili eşime teşekkür ederim.

**Dr. Hüsamettin YÜZER**

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
TABLolar DİZİNİ.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
KISALTMA LİSTESİ.....	VII
ÖZET, ANAHTAR KELİMELER.....	VIII
ABSTRACT, KEYWORDS.....	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER .....	3
2.1 İskemi/Reperfüzyon Hasarı .....	3
2.1.1 İskemi Reperfüzyon Hasarının Mekanizması.....	3
2.1.2 Serbest Radikaller.....	4
2.1.2.1 Süperoksid Radikali ( $O_2^-$ ).....	6
2.1.2.2 Hidrojen Peroksid.....	6
2.1.2.3 Hidroksil Radikali (OH).....	7
2.1.2.4 Singlet Oksijen .....	8
2.1.3 Serbest Radikallerin Biyolojik Hedefleri .....	8
2.1.3.1 Membran Lipidlerine Etkileri.....	8
2.1.3.2 Proteinlere Etkileri.....	9
2.1.3.3 Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri.....	9
2.1.3.4 Karbonhidratlara Etki .....	10
2.1.4 Vücudun Antioksidan Savunma Mekanizmaları.....	10
2.1.5 Enzimatik Antioksidanlar .....	11
2.1.5.1 Süperoksit Dismutaz (SOD).....	11
2.1.5.2 Katalaz .....	13
2.1.5.3 Glutasyon Peroksidaz.....	13
2.1.5.4 Glutasyon Redüktaz .....	14
2.1.5.5 Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz .....	15
2.1.6 Enzimatik olmayan endojen antioksidanlar.....	15

2.1.6.1	Glutatyon	15
2.1.6.2	C Vitamini (Askorbik Asit)	16
2.1.6.3	E Vitamini (Alfa-tokoferol)	16
2.1.6.4	Beta Karoten	17
2.1.6.5	Melatonin	17
2.1.6.6	Ürik asit ( Ürat )	17
2.1.6.7	Bilirubin	17
2.1.7	Eksojen Antioksidanlar	17
2.1.8	Ksantin Oksidaz Sistemi	18
2.1.9	Lökosit (Nötrofil, lenfosit, monosit) Aktivasyonu	18
2.1.10	Hücre İçi Kalsiyum Artışı	20
2.2	Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarı	21
2.3	Çalışmada Kullanılan Etken Maddeler	22
2.3.1	Ketamin	22
2.3.2	Tiyopental	22
2.3.3	Propofol	23
2.3.4	Etomidat	23
2.3.5	İntralipid	23
<b>3.</b>	<b>MATERYAL METOD</b>	<b>25</b>
3.1	Deney Hayvanları	25
3.2	İskemi Reperfüzyon Hasarı Modeli	25
3.3	Deney Grupları	27
3.4	Kullanılan İlaçlar	27
3.5	Biyokimyasal İnceleme Yöntemleri	28
3.6	Doku Analizleri	28
3.6.1	Doku MDA Analizi	28
3.6.2	Doku SOD Analizi	28
3.6.3	Doku Katalaz Analizi	29
3.7	Diğer Biyokimyasal Analizler	29
3.8	Histopatolojik Olarak İncelenmesi	29
3.9	İstatistik	30
<b>4.</b>	<b>BULGULAR</b>	<b>31</b>
4.1	MDA Değerleri Üzerine Etkiler	31

4.2 SOD Değerleri Üzerine Etkiler.....	32
4.3 Katalaz Değerleri Üzerine Etkiler .....	34
4.4 Serum BUN Değerleri .....	35
4.6 Serum AST Değerleri .....	36
4.7 Serum Kreatin Değerleri.....	36
4.8 Histopatolojik Bulgular .....	37
4.8.1 Böbrek Dokusunun Hematoksilen-Eosin İle Boyanma Özellikleri.....	37
4.8.2 Böbrek Dokusunun H-E Skorları .....	37
<b>5.TARTIŞMA.....</b>	<b>40</b>
<b>6. SONUÇ .....</b>	<b>49</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>50</b>

## TABLULAR DİZİNİ

Tablo I Reaktif oksijen partikülleri .....	5
Tablo II: Antioksidanlar .....	11
Tablo III: Böbrek dokusunda tespit edilen MDA değerleri (nmol/mg protein) .....	31
Tablo IV Böbrek dokusunda tespit edilen SOD değerleri (Ü/mg protein) .....	33
Tablo V Böbrek dokusunda tespit edilen Katalaz değerleri (Ü/mg protein).....	34
Tablo VI Serumda tespit edilen BUN değerleri (mg/dl ) .....	35
Tablo VII Serumda tespit edilen AST değerleri (U/L).....	36
Tablo VIII Serumda tespit edilen Kreatin değerleri (mg/dl) .....	37
Tablo IX Böbrek dokusu histopatolojik analiz sonuçları .....	39

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1:Ksantin oksidaz sisteminin radikal oluşturma mekanizması.....	4
Şekil 2 Antioksidan savunma mekanizması .....	12
Şekil 3: GSH redoks döngüsü.....	16
Şekil 4: Nötrofil infiltrasyonu.....	20
Şekil 5. Median laparotomi insizyonu.....	26
Şekil 6. Renal pedikülün klempenmesi .....	26
Şekil 7. Reperfüzyonun 5. dakikasında reperfüze alanların belirginleşmesi.....	26
Şekil 8. Reperfüzyonun 60. dakikasında böbrek .....	26
Şekil 9. Sol nefrektomi materyali .....	26
Şekil 10. Nefrektomi piyesi ikiye bölündüğündeki görünümü.....	26
Şekil 11. Gruplarda MDA aktivitesi .....	32
Şekil 12. Gruplarda SOD aktivitesi .....	33
Şekil 13. Gruplarda Katalaz aktivitesi .....	35
Şekil 14. Normal tübüler yapı.....	38
Şekil 15. Hafif dereceli dilatasyon .....	38
Şekil 16. Orta dereceli dilatasyon.....	38
Şekil 17. Hafif dereceli tübüler dejenerasyon .....	38
Şekil 18. Orta dereceli tübüler dejenerasyon.....	38
Şekil 19. Normal medüller yapı.....	38
Şekil 20. Hafif dereceli konjesyon .....	38
Şekil 21. Orta dereceli konjesyon.....	38
Şekil 22. Şiddetli dereceli konjesyon .....	38
Şekil 23. Grupların histopatolojik skorları .....	39

## KISALTIMA LİSTESİ

I/R: İskemi reperfüzyon

ATP: Adenozin trifosfat

ADP: Adenozin difosfat

AMP: Adenozin monofosfat

SOR: Serbest oksijen radikalleri

KO: Ksantin oksidaz

KD: Ksantin dehidrogenaz

O<sub>2</sub><sup>-</sup>: Süperoksit radikali

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hidrojen peroksit

GPX: Glutatyon peroksidaz

MDA: Malonilaldehit

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

SOD: Süperoksit dismutaz

ATN: Akut tübüler nekroz

OH: Hidroksil radikali

DNA: Dinükleik asit

RNA: Ribonükleik asit

HOCl: Hipoklorik asit

GSH: Glutatyon

GSSG: Oksitlenmiş glutatyon

PMNL: Polimorf nüveli lökosit



## ÖZET

### **KETAMİN, TİYOPENTAL, PROPOFOL, ETOMİDAT VE İNTRALİPİDİN BÖBREK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA ETKİLERİ**

Bu çalışmanın amacı, ketamin, tiyopental, propofol, etomidat ve intralipidin ratlarda serbest radikal aracılığıyla oluşan böbrek iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarına etkilerini araştırmak ve karşılaştırmaktır.

Çalışmamızda 42 adet wistar cinsi rat 7 farklı gruba ayrılmıştır. Sham grubuna sadece laparotomi uygulandı ve hiçbir işlem yapılmadan 120 dakika beklendi. Kontrol grubuna ise 60 dakika iskemi ve 60 dakika reperfüzyon uygulandı. Ketamin, tiyopental, propofol, etomidat ve intralipid gruplarına ise reperfüzyondan 15 dakika önce olacak şekilde etken maddeler intraperitoneal yolla uygulandı ve ardından 60 dakika reperfüzyona bırakıldı. Reperfüzyon döneminin sonunda ratlardan böbrek dokusu ve kan örnekleri alındı. Bu örneklerle biyokimyasal (Malondialdehit (MDA), Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz, BUN, kreatin, AST) ve histopatolojik analizler yapıldı. Sonuçlar birbirleriyle istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Ketamin, tiyopental ve propofol gruplarının MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin derecede düşük olduğunu saptadık( $p<0.05$ ). Tiyopental ve propofolün histopatolojik skorları kontrol ve etomidat gruplarına göre düşük saptandı( $p<0.05$ ). Bulgularımız tiyopental ve propofolün İ/R hasarını belirgin ölçüde azalttığı gösterir. Bu maddelerin koruyucu etkileri antioksidan özelliklerinden kaynaklanıyor olabilir. Ketamin, etomidat ve intralipidin İ/R hasarını azaltıcı etkileri olabilir ama bu etkileri belirgin değildir.

Sonuç olarak tiyopental ve propofol anestezisi böbrek İ/R hasarının histopatolojik ve biyokimyasal olumsuz etkilerini azaltabilir.

**Anahtar kelimeler: İskemi reperfüzyon hasarı, Ketamin, Etomidat, Tiyopental, Propofol, İnalipid**

## ABSTRACT

### THE EFFECTS OF KETAMINE, THIOENTAL, PROPOFOL, ETOMIDATE AND INTRALIPID ON RENAL ISCHEMIA REPERFUSION INJURY

The purpose of this study was to investigate and compare the efficiency of ketamine, thiopental, propofol, etomidate and intralipid in the reduction of injury induced by free radicals in a rat model of renal ischemia reperfusion (I/R).

Forty-two wistar rats were divided into seven groups in our study. Rats in the sham group were gone laparotomy and wait for 120 minutes without ischemia. Rats in I/R groups, ischemia was produced by clamping left renal pedicle for 60 minutes and than followed by 60 minutes reperfusion period. Rats in the control group were given nothing with I/R. In Ketamine, thiopental, propofol, etomidate and intralipid groups, drugs were given intraperitoneally 15 min before reperfusion period. Blood samples, kidney tissues were taken at the end of the reperfusion period. Biochemical (Malondialdehyde(MDA), Superoxide dismutase, Catalase, BUN, creatine, AST), histopathological analysis are performed with these samples. Results were compared statistically.

MDA levels were lower in ketamine, thiopental and propofol groups compared to control group ( $p < 0.05$ ). In thiopental and propofol groups, level of histopathological scores are decreased than control and etomidate groups in I/R ( $p < 0.05$ ). Our results demonstrate that I/R injury was significantly reduced in propofol and thiopental groups. Protective effects of these drugs may belong to their antioxidant properties. Ketamine, etomidate and intralipid may reduce renal I/R injury but these effects were not significant.

These results may indicate that propofol and thiopental anesthesia protects against functional, biochemical, and morphological damage better than control in renal I/R injury.

**Keywords: Ischemia reperfusion injury, Ketamine, Thiopental, Propofol, Etomidate, Intralipid**

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi bir dokuya gelen kan akımını azalması veya kesilmesine denir. Reperfüzyon ise kan akımının yeniden başlamasıdır. İskemiye maruz kalan dokuda başlayan kimyasal reaksiyonlar sonucunda hücresel disfonksiyon ve nekroz gelişir. İskemik dokunun reperfüzyonu, bir dizi olayın başlaması ile paradoksal olarak doku hasarına yol açar. Reperfüzyon döneminde başlayan reaksiyonların sitotoksik oksidanlar ile ilişkili olması nedeniyle, bu dönemde gelişen hasarın sadece iskemiden sonra oluşan hasara göre daha ciddi olduğu bildirilmiştir (17,86).

Transplantasyon, renovasküler cerrahi, aortun klempajı, şok ve travma gibi klinik durumlar sırasında böbrekte iskemi reperfüzyon hasarı oluşabilmektedir. Bu hasarın şiddetine bağlı olarak sonuçta belirgin doku hasarı olmaksızın gelişen prerenal azotemiden, tübüler veya kortikal nekroza bağlı ciddi akut böbrek yetmezliğine kadar değişebilen farklı klinik tablolar karşımıza çıkabilmektedir. İskemi/reperfüzyona (İ/R) bağlı olarak gelişen akut tübüler nekroz (ATN) veya renal yetmezlik, yoğun bakım ünitelerindeki morbidite ve mortalitenin başlıca nedenlerindedir (3,58).

Renal transplantasyon sonrası gelişen greft fonksiyon gecikmesinin, özellikle akut tubuler nekroza bağlı olduğu saptanmıştır. Akut tubuler nekroz, iskemi-reperfüzyon da oluşan serbest oksijen radikallerinin meydana getirdiği hasar sonucu oluşmaktadır (61).

Serbest oksijen radikalleri, epilepsi, alzheimer, ateroskleroz, diyabet, kanser gibi pekçok hastalıkta önemli rol oynamaktadır. İskemik dokuda serbest radikal oluşumu ve reperfüzyon ile bu oluşumun artması, konunun organ transplantasyonu açısından da önemini vurgulamaktadır (65).

Organizma iskemi-reperfüzyon sonrası oluşan serbest oksijen radikallerine karşı savunma yolları geliştirmiştir. En önemlisi antioksidan enzim sistemidir. Bu enzimler iskemi-reperfüzyon hasarında dokuda biriken serbest oksijen radikallerinin detoksifikasyonunda görevlidir. Antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx), iskemi-reperfüzyonla oluşmuş, süperoksit ( $O_2^-$ ) ve hidrojen peroksid ( $H_2O_2$ ) radikallerinin hücre için daha toksik olan hidroksil radikaline ( $OH^-$ ) çevrilmeden detoksifikasyonunda rol oynarlar. Ayrıca iskemi-reperfüzyonla oluşmuş serbest radikallerin hasarına bağlı olarak hücre membranındaki poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu, organellerde malonildialdehit (MDA) birikimi olur. İskemi/reperfüzyon hasarını önlemek için

çeşitli ajanlar ve çok sayıda antioksidan maddeler ile araştırmalar yapılmıştır (53).

Renal transplantasyon işleminde transplante edilecek greftin İ/R hasarına değişen düzeylerde maruz kalması, postoperatif dönemde buna bağlı greft fonksiyon gecikmelerine hatta greft kayıplarına neden olabilmektedir. Dolayısıyla bu prosedürde İ/R hasarının önlenmesine yönelik girişimlerin greft fonksiyonlarına ve greft yaşam süresine olumlu etkilerde de bulunması tartışmasız bir gerçektir. Bu nedenle büyük ameliyatlar ve renal transplantasyon öncesinde renal İ/R hasarından korunmak amacıyla uygun bir profilaktik tedavinin bulunması akılcı bir yaklaşımdır.

Perioperatif böbrek yetmezliği riski olan hastalarda, beraberinde böbrek hastalığı olan hastalarda ve transplantasyon gibi cerrahi girişimlerde, anestezi madde böbrek fonksiyonlarını korumak için seçilmelidir. Ama hala böbrek fonksiyonlarını koruyacak ideal anestezi madde geliştirilememiştir. Bu tip hastalar perioperatif morbidite ve mortalite ile karşı karşıyadır (53).

Bu çalışmamızda böbrek dokusunda oluşturulan iskemi ve reperfüzyonun yaratacağı hasara karşı farklı anestezi maddelerin olası etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1 İskemi/Reperfüzyon Hasarı**

Bir organa gelen kan akımının çeşitli nedenlerle (özellikle vasküler cerrahi işlemler ve organ transplantasyonu esnasında) yetersiz hale gelmesine veya durmasına iskemi denir. İskemi sonucunda doku hipoksidede kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar. İskeminin uzun sürmesi sonucunda hücrelerin bütünlüğü kaybolur hatta hücreölüm meydana gelir. Reperfüzyon ise dokunun kanlanması yeniden başlamasıdır. İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması durumunda (reperfüzyon), özellikle dokuya gelip yerleşen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından salınan serbest oksijen radikalleri (SOR) dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar. Bu olaya reperfüzyona bağlı doku hasarı denir (17).

İ/R hasarı, oluş mekanizması aydınlatılmış, tedavisi için çok uzun süredir birçok ilaç denenmiş ve halen üzerinde çalışılan bir klinik sorundur. İ/R hasarına bağlı akut böbrek yetmezliği de sık görülen ciddi morbidite ve mortaliteye sahip bir klinik durumdur. Birçok faktör İ/R hasarı oluşumunda etkilidir. (40)

#### **2.1.1 İskemi Reperfüzyon Hasarının Mekanizması**

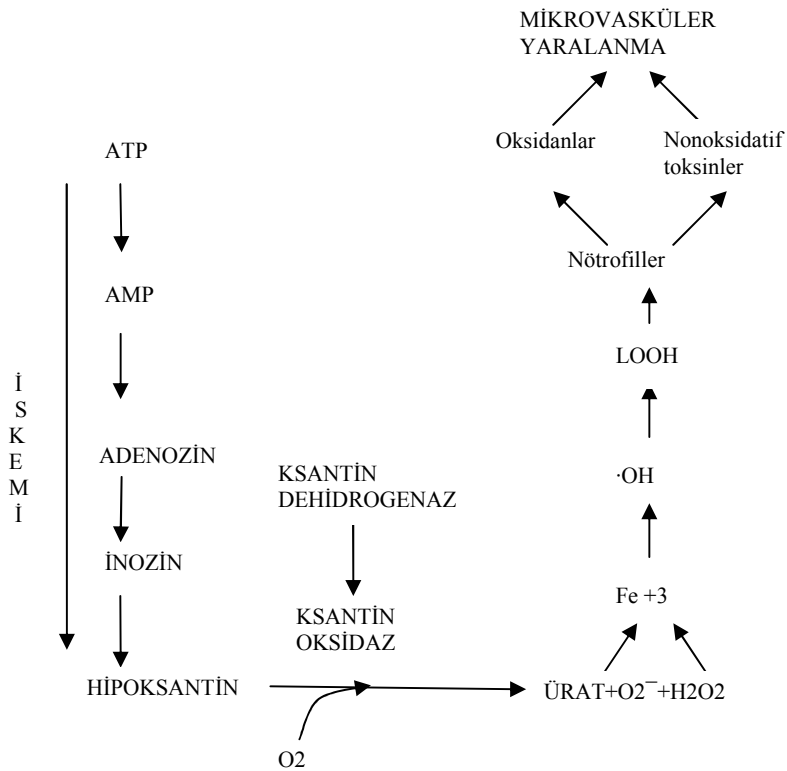
Mitokondrideki oksidatif fosforilasyonun engellenmesine neden olan hipoksi, hücrede anaerobik solunumu başlatır. Hipoksi adenosin trifosfat (ATP) oluşumu yavaşlatıp durdurarak, hücre zarında aktif sodyum pompasının yetersizliğine yol açar ve hücre içi sodyum birikimine ve hücreden potasyum atılmasına neden olur. Aynı anda solid materyalin birikimiyle izoozmotik su birikimi eşlik ederek akut hücreölümüne neden olur. Hücreölümüne ATP azalması adenosin monofosfat (AMP) artımı ile birlikte gerçekleşir. Bu durum fosfofruktokinaz enzimini uyarır ve anaerobik glikolizi artırarak, glikojenden ATP oluşumunu sağlar. Bu sayede hücre içi enerji kaynakları korunur. Ama glikolizde, laktik asit ve fosfat türevlerinden hidroliz sonucu oluşan inorganik fosfat birikimiyle, hücre içi pH' ı düşer. Takibinde hücre içersinde granüllü endoplazmik retikulum ribozomlardan ayrılır. Zar geçirgenliği artarak, hücre yüzeyinde tomurcuklanma oluşur. Sitoplazmada ya da dışarda organel zarları gibi plazmadan köken alan konsantrik lamina (myelin şekiller) görülür. Endoplazmik retikulum genişlemiştir ve tüm hücre belirgin olarak şişmiştir. Yukarıdaki bozuklukların tümü oksijen verilince kadar geri dönüşlüdür, ancak iskemi sürerse geri dönüşümsüz zedelenme başlar (17).

Hipoksi oksidatif fosforilasyonu etkileyerek hayati önemi olan ATP yapımını durdurur. Kritik noktadan sonra öldürücü membran zedelenmesine neden olur. Aynı zamanda

oluşan reperfüzyon da hücrede aşağıdaki hasarlara neden olur.

- 1- Ksantin oksidaz kaynaklı serbest radikallerin oluşumu
- 2- Hasarlı endotele nötrofil yapışmasında artma
- 3- Enerji kaybı olan organa reperfüzyon sırasında  $Ca^{+2}$  taşınması
- 4- Post iskemik dönemde adenin nükleotid sağlanmasındaki yetersizlik, hücrede enerji açığı

İskemide ATP, ADP, AMP, inozin'e ve hipoksantin'e yıkılır. Normalde hipoksantin ksantinoksidaz ile ksantin ve ürik aside okside olur. Bu birikim hipoksantin oksijenizasyonu için substrat fazlalığı yaratmaktadır. Reperfüzyonda ani ve fazla miktarda  $O_2$  sağlandığından, hipoksantin ksantine oksidasyonu, süperoksit radikallerinin ortaya çıkmasına neden olur (17). (Şekil 1)



Şekil 1:Ksantin oksidaz sisteminin radikal oluşturma mekanizması

### 2.1.2 Serbest Radikaller

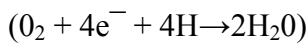
İskemik böbrek hasarında, renal perfüzyonun bozulması sonucu oluşan, ve böbrek fonksiyonlarının bozulmasında temel patoloji olan tübüler hasarın yanı sıra, yeniden perfüzyon sağlandıktan sonra üretilen serbest radikaller de önemli bir yere sahiptir (8,28). En dış orbitada bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron taşıyan atom veya moleküle serbest radikal denir. Son orbitadaki bu eşleşmemiş elektrona bağlı olarak, bu atom veya molekül reaktif olup diğer moleküller ile reaksiyona girme eğilimindedir (16, 28, 64).

Oksijen, dış orbitada 2 tane eşleşmemiş elektronu ile biyolojik sistemlerdeki önemli bir serbest radikaldir. Oksijen ile reaksiyona giren moleküllerin oluşturduğu serbest radikaller de biyolojik sistemde önemli bir yere sahiptir (64). (tablo1)

Tablo I Reaktif oksijen partikülleri

Radikaller	Radikal olmayanlar
Süperoksid anyon radikali (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	Hidrojen peroksid (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
Hidroksil (HO <sup>·</sup> )	Singlet oksijen (*O <sub>2</sub> )
Peroksi(ROO <sup>·</sup> )	Ozon (O <sub>3</sub> )
Alkoksil (RO <sup>·</sup> )	Hipokloröz asit (HOCl)
Nitrik oksit(NO <sup>·</sup> )	Lipit hidroperoksid (LOOH)
Semikinonon radikali (HQ <sup>·</sup> )	Peroksinitrit (ONOO <sup>·</sup> )
Hemoproteine bağlı serbest radikaller	Azot dioksit (NO <sub>2</sub> )
Organik radikaller (R <sup>·</sup> )	N-halojenli aminler (R-NH-X)
Organik peroksid radikali (RCOO <sup>·</sup> )	Hipohalöz asid (HOX)

Normal koşullar altında mitokondrial elektron transport sisteminde oksijene dört elektron eklenerek suya (H<sub>2</sub>O) indirgenir.



Ancak IRH durumunda sadece bir elektron ( e<sup>-</sup> ) transferi ile tek değerli indirgenme olur ve oldukça reaktif serbest oksijen radikalleri (SOR) meydana gelir. Bunlar süperoksid anyonu (O<sub>2</sub><sup>-</sup> ), hidrojen peroksid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hipoklorit asit (HOCl) ve hidroksi (OH<sup>-</sup>) radikalidir. Yapılan çalışmalarda serbest oksijen radikallerinin reperfüzyonun ilk birkaç dakikası içinde en fazla üretildiği dolayısıyla reperfüzyon hasarının en fazla erken dönemde olduğu gösterilmiştir (36).

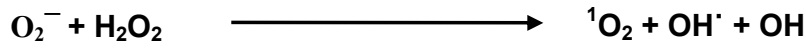
Moleküler oksijen her aşamada indirgenerek yukarıda tanımlanan reaktif oksijen metabolitlerinin oluşumuna yol açar.  $O_2^-$  tek başına hücre yıkımına neden olan reaksiyonları başlatabildiği gibi, esas olarak daha reaktif oksijen radikallerinin oluşumuna yol açarak hücre toksisitesinde rol oynamaktadır.

Bu türler arasında en sık karşılaşılanlar ise:

### 2.1.2.1 Süperoksid Radikali ( $O_2^-$ )

Zayıf reaktif bir serbest radikal olan süperoksid anyonu moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir. Süperoksid oluşumu özellikle mitokondri iç zarındaki solunum zincirinde elektrondan zengin aerobik ortamda spontan olarak meydana gelir. Süperoksid radikali ksantin oksidaz ve bir grup flovoenzimler tarafından oluşturulmaktadır. Diğer süperoksit üreten enzimler lipooksijenaz ve siklooksijenazdır. Fagositik hücrelerin NADPH bağımlı oksidaz enzim kompleksi fazla miktarda süperoksit radikali oluşturmaktadır. İki molekül süperoksit molekülü süperoksid dismutaz (SOD) tarafından hızla hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşür (16).

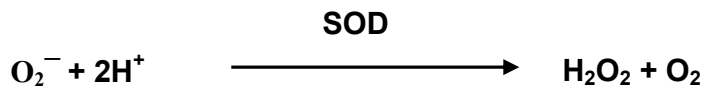
1.  $H_2O_2$  ile tepkimeye girerek hidroksil radikali ( $OH^\cdot$ ) ve singlet oksijen ( $^1O_2$ ) oluşturabilir.



2. Hidroksil radikali ile tepkimeye girerek singlet oksijen yapımına neden olur.



Serbest radikallere karşı organizmanın uzun süreli korumasız kalması bu maddelerin düşük konsantrasyonlarının bile biyolojik açıdan önemli moleküllerin tahribatı ile sonuçlanır ve sonuçta DNA' da mutasyona, doku tahribatına ve hastalıklara yol açar.



### 2.1.2.2 Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit iki yol ile oluşur.



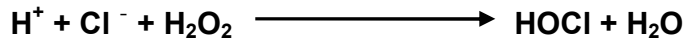
1. Oksijenin iki elektronla indirgenmesi sonucu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ortaya çıkar.



2. Biyolojik sistemlerde sıklıkla görülen süperoksidin üretimi yoluyla oluşmaktadır ve böylece iki süperoksid anyon radikali birbiriyle, hidrojen peroksit ve oksijeni verecek şekilde reaksiyona girerler (45).



Süperoksit radikallerinin temizlendiği bu tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir. Bu reaksiyon SOD tarafından veya spontan olarak oluşabilir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bir serbest radikal değildir, fakat biyolojik membranlara kolaylıkla girebilmesinden dolayı oldukça önemlidir. Nötrofil fagozomlarında bulunan myeloperoksidaz enzimiyle çok reaktif serbest oksijen radikali olan HOCl oluşumuna sebep olur.

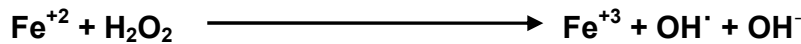


H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> geçiş metallerinin varlığında en önemli serbest oksijen radikali (SOR) olan OH<sup>•</sup> radikalinin oluşumunu sağlar. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin diğer önemli bir görevi de hüreiçi sinyal molekülü olarak rol almasıdır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşuktan sonra katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinler adında üç enzim sistemi tarafından uzaklaştırılır (54).

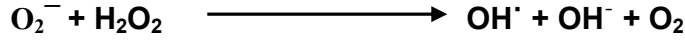
### 2.1.2.3 Hidroksil Radikali (OH)

(OH) biyolojik sistemlere diğer SOR' den daha fazla hasar veren, biyomoleküllerle reaksiyona girebilen güçlü bir radikaldir. Oluşması için ortamda geçiş metalleri gereklidir (54).

Demir (Fe) katalizli - Haber Weiss reaksiyonu (Fenton Reaksiyonu)



Katalize olmayan Haber Weiss reaksiyonunda ise, süperoksidin direk olarak hidrojen peroksitle reaksiyona girmesidir.



OH<sup>·</sup> radikali canlı hücrelerde bulunan bütün moleküllerle reaksiyona girebilmektedir. Lipit peroksidasyonunu başlatabilir, DNA iplikçiklerinde kırılmalara neden olabilir ve hemen her organik molekülü, ayırım yapmadan okside edebilir (16,45).

#### **2.1.2.4 Singlet Oksijen**

Enerji absorpsiyonu ile oksijenin paylaşılmamış dış elektronlarını değiştirerek aynı veya farklı orbitale yerleşebilirler. Uyarılmış haldeki bu oksijene singlet oksijen denir. Reaktif olmayan ancak reaktif oksijen radikallerinden biri olan singlet oksijen DNA, RNA, proteinler, lipitler ve sterollerini kapsayan çok sayıda biyolojik hedeflerle reaksiyona girerek hücrede zararlı etkilere sebep olur (21,73).

#### **2.1.3 Serbest Radikallerin Biyolojik Hedefleri**

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

- a) DNA' nın tahrip olması,
- b) Nükleotit yapılı koenzimlerin yıkımı,
- c) Lipid peroksidasyonu zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi,
- d) Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler,
- e) Protein ve lipitlerle kovalan bağlantılar yapması,
- f) Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması,
- g) Seroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi
- h) Proteinlerin tahrip olması ve protein döngüsünün artması
- i) Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/disülfid oranının değişmesi
- j) Kolojen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterosklerotik değişikliklerin oluşması
- k) Mukopolisakkaritlerin yıkımı şeklinde özetlenebilir (17).

### **2.1.3.1 Membran Lipidlerine Etkileri**

Lipid peroksidasyonunda, hücre membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asidi (PAYA) ile oksijen radikali, lipid hidroperoksitlerini oluşturmak için reaksiyona girer. Peroksidasyon şiddeti, lipidlerin doymamışlık derecesi ile orantılı olarak artar. PAYA' ların oksitlenmesi ile yağ asidi radikali oluşur. Buna oksijenin eklenmesi ile lipid peroksi radikali oluşur. Peroksi radikali zincir reaksiyonunun taşıyıcısıdır. Eğer E vitamini ve/veya erdostein gibi bir antioksidan tarafından önlenmezse komşu PAYA moleküllerini okside eder (81).

Bu durumda yeni radikallerin ve toksik aldehitlerin oluşmasına neden olan lipid hidroperoksitleri meydana gelir. Lipid peroksidasyonu membran yapısına ve diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Membran geçirgenliği ve membran akışkanlığı ciddi şekilde etkilenir. Lipid peroksitlerinin yıkımından oluşan ürünlerden biri malondialdehittir (MDA). Bu, protein ve fosfolipidlerle çapraz bağ ve polimerizasyon yaparak özelliklerinin kaybolmasını sağlar.

MDA; deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Hücrenin her tarafına dağılarak, özellikle sülfidril içeren enzimleri inaktive eder. Nükleik asitlerle etkileşmeye girerek genetik şifrede mutasyona yol açar. Sonuç olarak iyon transport bozuklukları, enzim aktivite değişiklikleri, hücre bileşenlerinin agregasyonu gibi değişiklikler ortaya çıkabilir (24,27).

Membranda lipid peroksidasyonu sonucu:

- a- Membran transport sistemleri bozulur
- b- Hücre içi ve hücre dışı iyon dengeleri bozulur
- c- Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artar ve buna bağlı olarak proteazlar aktive olur,
- d- Hücre içi organellerde oluşan lipid peroksidasyonu ve litik enzimlerin salgılanmasına bağlı hücre hasarı gelişir.

### **2.1.3.2 Proteinlere Etkileri**

Proteinlerin serbest radikallerden ne derecede etkileneceği aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, sistein gibi aminoasitler kolaylıkla etkilenirler. Çünkü doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksektir. Etkileşim proteinlerin spesifik bölgeleri üzerinde yoğunlaşmışsa hücrenin canlılığını olumsuz yönde etkileyebilir (16).

### **2.1.3.3 Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri**

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon ve ölüme yol açarlar. DNA serbest radikallerden kolayca etkilenir. Çünkü hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girebilir. Nötrofillerden kaynaklanan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, membranlardan kolayca geçip hücre nükleusuna ulaşarak DNA hasarı, hücre disfonksiyonu ve ölüme yol açabilir (17).

### **2.1.3.4 Karbonhidratlara Etki**

Özellikle monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Bir okzoaldehit olan glikozil, DNA ve RNA arasında çapraz bağ oluşturma özelliğinden dolayı antimitotik etki gösterir. Yine süperoksit ve hidrojen peroksitin in vitro olarak hyaluronik asidi parçaladıkları gösterilmiştir (17).

### **2.1.4 Vücudun Antioksidan Savunma Mekanizmaları**

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu, bir kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önlemektedir. Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne birden genel olarak antioksidanlar denir. Antioksidan maddeler, serbest radikal oluşumunu engelleyerek, oluştuklarında onları yok ederek, radikalleri kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak, okside olarak zarar görmüş hücresel yapıları onararak etki gösterirler (17, 4, 9, 84). (tabloII)

Tablo II: Antioksidanlar

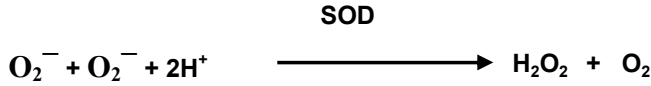
Enzimatik Antioksidanlar	Enzimatik olmayan antioksidanlar
Primer:	1-Vitamin E
1-Süperoksid dismutaz	2-Vitamin C
2-Glutatyon peroksidaz	3-Flavonoidler
3-Glutatyon transferaz	4-Butilenmiş hidroksianizol
4-Katalaz	5-Butilenmiş hidroksitoluen
Sekonder:	6-Ebselen
1-NADPH-Kinon oksidoredüktaz	7-P-karoten
2-Glutatyon S-transferaz	8-Ürat
3-Epoksit hidrolaz	9-Seruloplazmin
4-Glukronil transferaz	10-Transferrin
5-Sulfonil transferaz	11-Albumin
6-Glutatyon redüktaz	12-Haptoglobin
7-Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz	13-Likopen
8-6-fosfoglukonat dehidrojenaz	14-Metalloiyonein
9-İzositrat dehidrojenaz	15-Bilirubin
10-Okside glutatyon ve konjugat taşıyıcıları	16-Ubikinon
	17-Deferoksamin
	18-Melatonin

## 2.1.5 Enzimatik Antioksidanlar

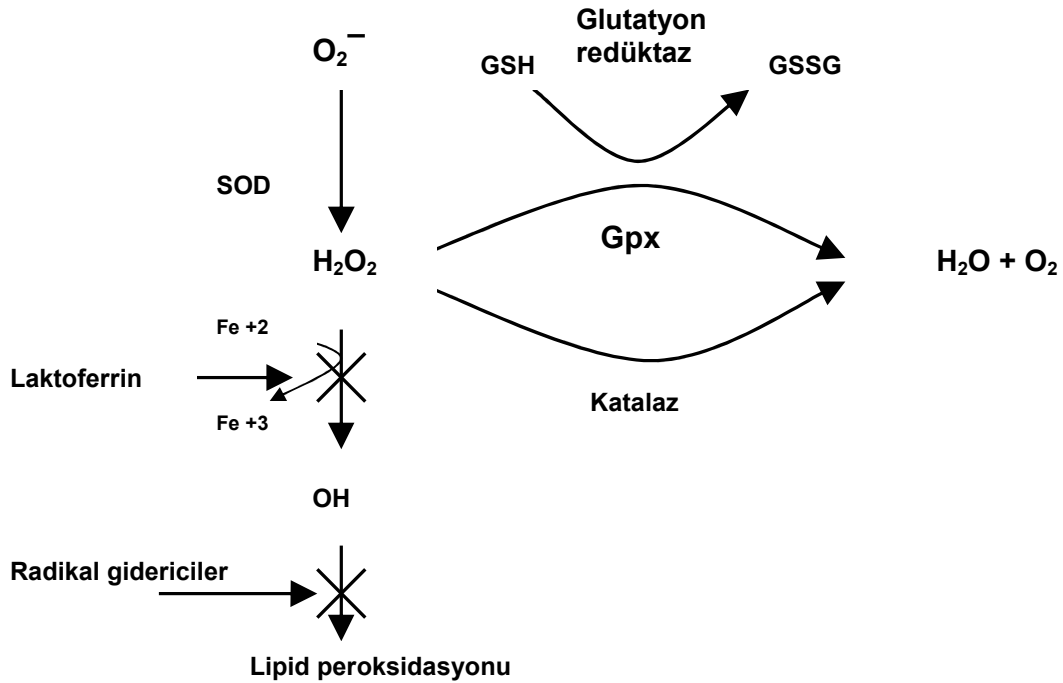
### 2.1.5.1 Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalini hidrojen perokside dönüştüren dismutasyon reaksiyonunda görevli metalloprotein yapısında enzimdir. Süperoksitler, radikal tepkimeleri başlatarak hidroksil radikali, singlet oksijen ve organik radikallerin oluşumuna neden olurlar. Radikal zincir tepkimelerinin başlaması ile birlikte reaktif ve toksik etkili radikallerin yapımı SOD tarafından engellenir. Serbest radikallere karşı organizmada ilk savunma SOD enzimiyle gerçekleşir. Organizmada oksidan stresin arttığı durumlarda SOD aktivitesi artarak koruyucu etkinliği sürdürmeye çalışır. Özellikle diğer enzimatik radikal temizleyicilerin aktivitelerinde azalma söz konusu olduğunda SOD aktivitesinde artma gösterilmiştir. SOD, katalaz ve glutatyon peroksidazdan farklı olarak serbest radikali substrat olarak kullanır. Süperoksitin

hidrojen perokside dönüşümü reaksiyonunu katalizler.



Süperoksit dismutaz, bu reaksiyonda hem oksidan hem de redüktan olarak hareket eder. Oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı SOD, katalaz ve glutatyon enzim sistemiyle birlikte çalışan bir savunma mekanizmasıdır (Şekil 2). Böylece oluşan hidrojen peroksit, katalaz veya glutatyon peroksidaz enzimleri tarafından su ve oksijene indirgenmektedir. Peroksit radikalinin dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksit doku için biyolojik avantaj sağlar.



Şekil 2 Antioksidan savunma mekanizması

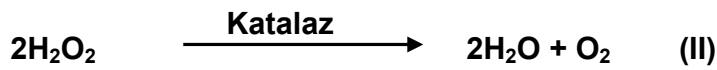
SOD'un görevinin aerobik organizmaları, süperoksidin zararlı etkilerine karşı korumak olduğu sanılmaktadır. Enzim, hücrede değişik kompartmanlarda bulunmaktadır. Sitozolik enzim, her biri içinde bir ekivalan bakır ve çinko taşıyan birbirine benzer iki alt üniteden meydana gelir. Fakat mitokondriyal enzim, bakterilerde bulunana benzer şekilde sadece manganez ( $\text{Mn}^{+2}$ ) içerir. Dismutaz bütün temel aerobik dokularda bulunmaktadır (77).

SOD enziminin canlılardaki dağılımı katalaz ile birlikte incelenmelidir. Çünkü SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan ürün, oksijenin toksik türlerinden biridir ve katalaz tarafından birikimi önlenmektedir (13,18).

### 2.1.5.2 Katalaz

Katalaz, tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir. Hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya katalizler.(79)

Hidrojen peroksidin; düşük hızlarda üretildiği durumlarda peroksidatik reaksiyon (I) ile, yüksek hızda üretildiği durumlarda ise katalitik reaksiyon (II) ile etki gösterir.



Daha çok peroksizomlarda lokalizedir. Katalaz'ın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ile metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük molekülü lipid hidroperoksitlerine etki etmez. Kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır (79, 29, 66, 62).

### 2.1.5.3 Glutasyon Peroksidaz

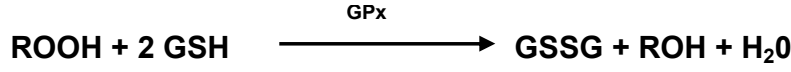
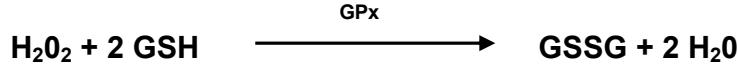
İlk olarak 1957 yılında Mills tarafından memeli eritrositlerinde gösterilmiştir. Bu sitozolik enzim tetramerik dört selenyum atomu ihtiva etmektedir. Glutasyon peroksidaz;  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve organik hidroperoksitlerin detoksifikasyonunu sağlayarak hücre membran lipidlerini oksidatif hasara karşı korumaktadır. Özellikle eritrositlerin membran bütünlüğünün sağlanmasında görev yapmaktadır (6,37).

Glutasyon peroksidaz enzimi iki farklı kategoride ele alınmaktadır;

**Selenyuma bağımlı GPx:** Bu sitozolik enzim, monomerik yapıda selenyum ihtiva etmektedir. Özellikle eritroristlerde bulunan glutasyon peroksidaz selenyuma bağımlı olarak görev yapmaktadır

**Selenyumdan bağımsız GPx:** Diğer dokularda olmakla birlikte özellikle karaciğer mitokondrilerinde aktivitede bulunmaktadır.

Glutasyon peroksidaz aşağıda belirtilen reaksiyon basamaklarında rol almaktadır:



Antioksidan etkinliği kanıtlanmış olan vitamin E'nin özellikle membranlarda sınırlı olduğu durumlarda GPx, membranları peroksidasyona karşı korumaktadır.

Fagositik hücrelerde GPx'in önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx solunum patlaması sırasında, serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engellemektedir. Glutatyon peroksidaz aktivitesi düşük olan makrofajlarda, zimosanla başlatılan solunum patlamasını takiben, hidrojen peroksid salınımının arttığı gösterilmiştir. Eritrositlerde de oksidan strese karşı en etkili antioksidan olan GPx'in aktivitesindeki bir azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına neden olmaktadır (50,51).

#### 2.1.5.4 Glutatyon Redüktaz

Glutatyon redüktaz, bir flavin enzimidir ve koenzimi NADPH ve prostetik grubu FAD' dir. Hem sitozol hem de mitokondride bulunmaktadır. Hidroksiperoksitlerin redükte olması ile meydana gelen oksitlenmiş glutatyon (GSSG), glutatyon redüktazın katalizlediği reaksiyon ile tekrar glutatyon'a (GSH) dönüşmektedir:

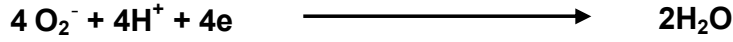
Okside glutatyon hücreyi antioksidanlara karşı koruyamaz. Okside glutatyon, tiol içeren proteinlerin konformasyonu ve aktivitesi üzerine zararlı etkili prooksidan bir madde olduğu için bu okside formun ileride kullanılmak üzere tekrar, deposu sınırlı olan GSH'a dönüştürülmesi gerekmektedir. Hücre, elektron kaynağı olarak NADPH'ı kullanan glutatyon redüktazın katalizlediği bir reaksiyon ile indirgenmiş glutatyonu tekrar oluşturur. NADPH, hidrojen peroksidin indirgenmesinde indirekt olarak elektronları sağlar. Oluşan  $\text{NADP}^+$  ise Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enzimi yardımıyla NADPH' a dönüştürülür (50).





### 2.1.5.5 Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, aşağıdaki reaksiyonla süperoksidi detoksifiye eden enzimdir.



Bu reaksiyon, fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyon olup, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi sağlanır(25, 74, 31).

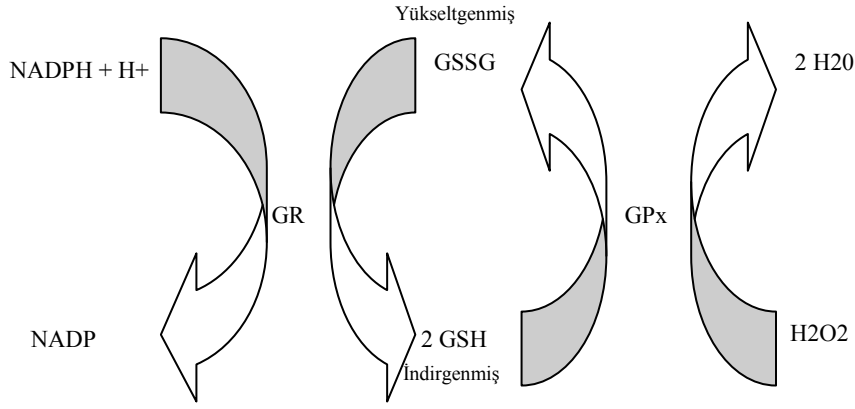
### 2.1.6 Enzimatik olmayan endojen antioksidanlar

Katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimler reaktif hidroksil türlerinin oluşturdukları zararlı etkilere karşı sınırlı ve direkt koruma sağlayabilirler. Bununla birlikte enzimatik olmayan antioksidanlar direk reaksiyona girerek oksidanları daha az zararlı ve daha stabil türevlere dönüştürebilirler.

#### 2.1.6.1 Glutatyon

Tripeptit yapıdaki bu antioksidan glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşmaktadır. Hemen hemen tüm hücrelerde bulunmakta ve antioksidan olarak metabolik faaliyetler sırasında çok önemli rol oynamaktadır. İndirgenmiş glutatyon sentezi ATP'nin de kullanıldığı iki basamaklı bir reaksiyonla oluşmaktadır (47,85).

İndirgenmiş glutatyon, GPx ve GR gibi ksenobiyotiklerin, karsinojenlerin, serbest radikallerin ve lipopolisakkaridler gibi endojen ve eksojen zararlı bileşiklerin detoksifikasyonunda önemli rol oynayan çok önemli bir antioksidan olarak bilinmektedir. İndirgenmiş glutatyonun peroksitlerle ve disülfidlerle GPx enzimi varlığında reaksiyonu sonucu GSSG (okside glutatyon) oluşmaktadır. Oksitlenmiş glutatyon konsantrasyonunda artış, oksidatif stresin bir göstergesi olmaktadır. Oksitlenmiş glutatyon, tiol içeren proteinlerin konformasyonu ve aktivitesi üzerine zararlı etkileri olan prooksidan bir madde olduğu için hızla redüklenmesi gerekmektedir. Glutatyon redüktaz enzimi NADPH varlığında GSSG'yi GSH'na redüklemektedir (54).(Şekil 3)



Şekil 3: GSH redoks döngüsü

Hidrojen peroksit miktarının yükselmesi GPx' in aktivitesinin artışına yol açmaktadır. Bunun sonucu olarak başlıca çözünen redoks-aktif kofaktör, indirgenmiş şekilden okside şekle dönüşmektedir. Bu değişikliklere sitozolik  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunun artışı eşlik ederek oksidan baskı ile ilişkili hücre yaralanmasına yol açmaktadır.

#### 2.1.6.2 C Vitamini (Askorbik Asit)

Güçlü bir indirgeyici ajan ve antioksidan olup süperoksit, peroksit ve hidroksil radikalleri ile reaksiyona girerek bir ara ürün olan semidehidroaskorbat yoluyla metaboliti dehidro askorbik asiti oluştururlar. Membran içindeki ve ekstraselüler dokulardaki lipid peroksidasyonunu önlerler.

#### 2.1.6.3 E Vitamini (Alfa-tokoferol)

Lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu serbest radikal temizleyicilerindedir. E vitamini zincir kırıcı bir antioksidan olup, her bir E vitamini molekülü iki oksidasyon zincirini durdurabilir. Aynı zamanda singlet oksijenin kuvvetli bir tutucusudur. Ayrıca hidroksil radikali, peroksi radikali ve süperoksitle direkt olarak reaksiyona girebilirler. Okside olan E vitamini, parçalanmadan önce askorbik asit ve glutatyon tarafından tokoferole geri çevrilebilir (70).

#### **2.1.6.4 Beta Karoten**

A vitamini ön maddesi olan beta karoten, etkili bir singlet oksijen ve radikal tutucu antioksidanlardandır (31).

#### **2.1.6.5 Melatonin**

Pineal bezden salgılanan direkt radikal temizleyici, indirekt olarak da antioksidan enzim düzeylerini artıran ve nitrik oksit sentetaz gibi preoksidatif enzimleri baskılayan antioksidan bir hormondur (31).

#### **2.1.6.6 Ürik asit ( Ürat )**

Ürik asit, ksantin oksidazın oksipürünleri (ksantin, hipoksantin gibi) oksitlemesi ile oluşur. İnsan ve gelişmiş primatlarda pürin metablozmasının son ürünüdür. Ürat, fizyolojik koşullarda singlet oksijen, hipoklorid ve hidroksil radikali gibi reaktif bileşikleri baskılar, fakat süperoksit radikali ile doğrudan reaksiyona girmez, peroksit kaynaklı lipid peroksidasyonuna karşı korur. Bu da ürik asidin antioksidan etkilerinin olduğunu göstergesidir (11).

#### **2.1.6.7 Bilirubin**

Hem katabolizmasının son ürünü olan bilirubin aynı zamanda singlet oksijen, peroksinitrit ve hipoklorik asit gibi reaktif oksijen ve nitrojen türevlerini baskılar, ayrıca peroksil radikallerine karşı hidrojen donörü olarak davranarak lipid peroksidasyonunun zincir devam ettirici radikalini de etkisiz hale getirir. Bu arada biliverdin ise bilirubine göre daha etkili biçimde peroksil radikallerini baskılar (75).

Yine plazmadaki ürik asit ve sistin, seruloplazmin ve transferrin radikal tutucu etkiye sahip diğer moleküllerdir (64,16).

#### **2.1.7 Eksojen Antioksidanlar**

*A-Enzim inhibitörleri:* Pterin aldehit, allopurinol, oksipurinol, folik asit, tungsten, NADPH oksidaz inhibitörleri (non-steroid antienflamatuar ilaçlar, adenozin, lokal anestetikler, kalsiyum kanal blokerleri).

*B-Non-enzimatik serbest radikal toplayıcıları:* Dimetilsülfoksit, mannitol.

*C-Demir-redoks döngüsü inhibitörleri:* Desferroksamin, seruloplazmin.

*D-Nötrofil adezyon inhibitörleri*

*E-Gıda antioksidanları:* Butylated hydroxytoluene, propylgalate, butylated hydroxyanisole, sodyum benzoat, ethoxyquin.(63)

### **2.1.8 Ksantin Oksidaz Sistemi**

Ksantin oksidaz (KO) enziminin, reperfüzyon sırasında açığa çıkan O<sub>2</sub> radikallerinin üretiminde rolü olabileceği ilk kez Granger ve ark. tarafından ortaya atılmıştır. Bu konudaki diğer gelişmelerde Granger ve ark'nın ortaya koyduğu bu çatı altında gelişmektedir. Bu araştırmacılar, iskemi sırasında KO enziminin Ksantin dehidrogenaz (KD)' a dönüştüğünü ve ATP' nin de hipoksantine katabolize olduğunu göstermişler ve reperfüzyon döneminde KO enziminin, hipoksantinine ksantine dönüşümünü katalizlerken elektron alıcısı olarak NAD<sup>+</sup> yerine O<sub>2</sub>' yi kullanarak, O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikalini oluşturduğunu ortaya koymuşlardır (30). (Şekil 1)

McCord postiskemik dokularda, doku harabiyetini oluşturan en önemli; faktörün KO enziminden kaynaklanan O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikalini olduğunu ve bu hasar sonucu gelişen fonksiyonel bozuklukların organdan organa farklılık gösterdiğini bildirmiştir (44).

Paller ve ark'nın yaptıkları çalışma, İ/R hasarının böbreklerde KO kaynaklı mekanizmayı göstermesi açısından büyük önem taşımaktadır (61).

Araştırmacılar sıçanlarda 60 dakikalık böbrek arteri oklüzyonunu takiben, 15 dakikalık reperfüzyon safhasında, böbreklerde lipid peroksidasyon artışını göstermişler ve bu toksik oluşumun allopurinol verilmesiyle azaldığını, organ fonksiyonlarının korunmasının sağlandığını göstermişlerdir. McCord, KD→KO dönüşümünün böbreklerde 30 dakikalık iskemi süresini gerektirdiğini ve bu sürenin O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikali oluşumu için yeterli olduğunu bildirmiştir(62).

45 dakikanın altındaki iskemi sürelerinde, iskemi-reperfüzyon hasarında KO sisteminin önemli bir oksidan kaynak olduğunu ve böbrek dokusunda KD→KO dönüşümü için 45 dakikanın altındaki iskemi sürelerinin yeterli olduğunu bildirmişlerdir (41).

### **2.1.9 Lökosit (Nötrofil, lenfosit, monosit) Aktivasyonu**

Reperfüzyon hasarının önemli bir nedeni de iskemik bölgeye lökositlerin, özellikle

PMNL olan nötrofillerin infiltrasyonudur. Nötrofil kemotaksisine, ksantin oksidaz reaksiyonu sırasında ortaya çıkan süperoksit anyon radikalleri neden olur. Reoksijenasyon ile aktive olan diğer kemotaktik ajanlar ise C5a, C3a, arasıdonik asid metabolitleri, özellikle LökotrienB<sub>4</sub>,

nitrikoksit, trombosit aktive edici faktör ve interlökin (1, 4, 6, 8), interferon ve tümör nekroz faktör gibi sitokinlerdir (35).

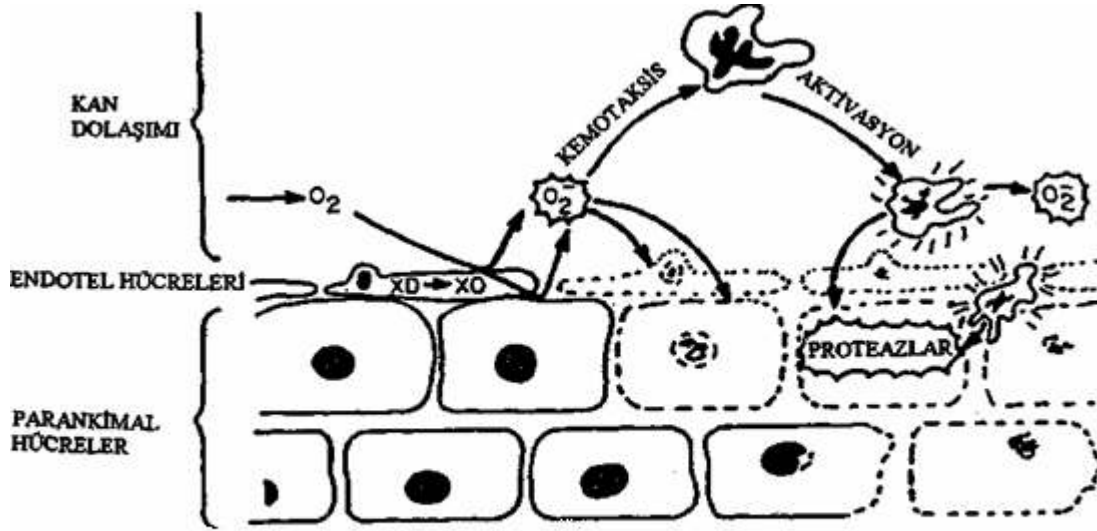
Nötrofiller, üzerinde bulunan glikoprotein yapısındaki adhezyon molekülleri ile etkileşime girdikleri endotel hücreleri arasına ilerleyerek ekstravasküler dokuya göç ederler. Aktive olmuş nötrofiller, antimikrobial savunma sisteminde kullandıkları mekanizma olan NADPH oksidaz enzimi aktivasyonu ile reperfüzyonda gelen moleküler oksijenden seri reaksiyonlar sonucunda oluşan süperoksit anyon radikali, hidroksil radikali, hidrojen peroksit, hipoklorik asit ve kloraminleri oluşturarak ileri doku hasarına neden olur (46,80).

İskemik dokuda serbest radikaller de 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. (Şekil 4)
- Nötrofillerin kapillerlerdeki agregasyonları ile kan akımının geri dönmesine engel olan kapiller tıkaçların oluştuğunu 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 fenomeni' ne (no reflow phenomen) aktive olmuş nötrofillerin yol açtığı gösterilmiştir (55).

Bir araşidonik asit metaboliti olan lökotrien B<sub>4</sub>'ü salgılayarak, süperoksit anyon radikali üretimine ve nötrofillerin kemotaksisine neden olmaktadır. Böylece pozitif bir feed back mekanizması ile toplanmış olan nötrofillerden salgılanan kemotaktik faktörler yeniden serbest radikal üretimine ve nötrofil infiltrasyonuna neden olmaktadır. Nötrofillerde üretilen O<sub>2</sub><sup>-</sup> in eritrositlerin agregasyonunu da hızlandırdığı ve bu etkinliğin kapiller tıkanmayı daha artırıcı olabileceğini bildirilmiştir (32).



Şekil 4: Nötrofil infiltrasyonu

### 2.1.10 Hücre İçi Kalsiyum Artışı

İskemi reperfüzyon hasarının gelişmesinde çok önemli diğer bir olay hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artışıdır. Hücre içi kalsiyum artışı; hücre dışından kalsiyum girişi, hücre içi kalsiyum depolarından kalsiyum salınması ve hücre içi kalsiyum düzeyini kontrol eden mekanizmalarının bozulması şeklinde üç yoldan gerçekleşmektedir. İskemide hücre içinde serbest kalsiyum artışı ile birlikte başlıca; lipoliz, proteoliz, DNA hasarı, mitokondri elektron transport zincir hasarı görülmektedir (59,71).

Doku hasarına yol açan serbest oksijen radikal formasyonunun, hücrel kalsiyum dengesini bozarak da etkili olduğu bilinmektedir. Oksidatif stres sonucu açığa çıkan SOR, Glutasyon redüktaz düzeyini düşürerek, intrasellüler  $Ca^{+2}$  dağılımını bozar. Daha sonra  $Ca^{+2}$  ATPaz inaktivasyonuna bağlı olarak, endoplazmik retikulum ve mitokondriumlardan  $Ca^{+2}$  serbestleşir ve sitozolik  $Ca^{+2}$  düzeyi yükselir. Plazma-membran  $Ca^{+2}$  ATPaz sisteminin de inaktivasyonu, ekstrasellüler kalsiyumun hücre içine akımı izlenir. Sonuçta sitozolik ve mitokondriyal kalsiyum içeriği daha da artar. Bu da mitokondriyal disfonksiyona yol açar ve hücreyi ölüme götüren kaskad sistemlerinin tetiğim çeker. Bu durum, temel olarak hücrel ATP' nin ve dolayısıyla hücre enerji düzeyinin azalmasına sekonder gelişmektedir.

Hücre içinde biriken  $Ca^{+2}$  irreverzibl hücre hasarına ve hücre ölümüne neden olur.  $Ca^{+2}$  un hücre içine girmesi proteazları aktive ederek hücre membranını parçalar. Aktive olan proteazlardan biri hücre yüzeyini balonlaştırarak hücre iskeletinin çökmesine neden olur. Kalsiyum ile aktive edilen ve 'kalpein' olarak tanımlanan ikinci sitozolik proteaz enzimi ise,

ksantin dehidrogenaz'dan ksantin oksidaz oluşumunu indükler. Ayrıca, fosfolipaz A1 ve A2'yi aktive ederek, mitokondri ve hücre membranındaki fosfolipitler parçalanır. Membran fosfolipidlerinin parçalanması sonucu serbest yağ asitleri oluşur. Serbest yağ asitlerinin en önemlisi araşidonik asittir. Araşidonik asit, serbest radikallere, prostoglandinlere ve lökotrienlere metabolize olabilir. Bu maddeler, nötrofillerin endotelyuma adhezyonunu arttırarak, IRH'nın oluşmasında önemli rol oynarlar (52).

## **2.2 Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarı**

ATN morfolojik olarak tübül epitelyal hücrelerinin yıkımı ve klinik olarak böbrek işlevlerinin akut olarak baskılanmasıyla karakterizedir. ATN çeşitli klinik durumlarda ortaya çıkan, geriye dönebilen bir böbrek lezyonudur. Şiddetli travmadan, akut pankreatit ve septisemiye kadar değişebilen bu klinik durumlara genellikle belirgin hipotansiyon ve şokun eşlik ettiği periferik organlara yetersiz kan akımı dönemi vardır. Olayı ortaya çıkaran faktörlerin çokluğu nedeniyle ATN sık olarak gelişmektedir. Bundan başka geriye dönebilir olması ayrı bir önem taşımaktadır, çünkü uygun tedavi tam iyileşme ile kesin ölüm arasındaki fark demektir(61).

İskemik akut böbrek yetmezliği, böbreklerde vazokonstrüksiyon, glomerüler filtrasyon hızında düşme, tübül tıkanıklığı ve glomerüler filtratın tübüllere geri sızması ile karakterizedir. Akut böbrek yetmezliğinin en sık nedeni akut tübüller nekrozdur (17).

Post-iskemik hasar iki basamakta olmaktadır; kan akımının ve ATP'nin azaldığı iskemik dönem ve iskemiye takip eden reperfüzyon dönemi. Yapılan çalışmalar iskemik hasarın önemli bir kısmının oksijen metabolitlerince reperfüzyon safhasında oluştuğunu göstermiştir(14).

Oksijen radikallerinin kısa ömürlü ve böbrek dokusunun kompleks bir yapıya sahip olmasından dolayı oksijen radikallerini doğrudan tespit etmek zordur. Serbest oksijen radikal kaynaklı lipid peroksidasyonu ölçümü ile (MDA ve lokal olarak oluşan ve etanın kanla transportunun sağlanarak akciğerlerden atılımının gösterilmesi ile) dolaylı biçimde yapılır(61).

Paller ve ark'nın yaptıkları çalışmalar bu konuda yapılan çalışmalara temel oluşturması bakımından büyük önem taşımaktadır. Paller ve arkadaşları sıçanlarda 60 dakikalık böbrek arteri oklüzyonunu takiben, 15 dakikalık reperfüzyon döneminden sonra, böbreklerde MDA oluşumunu ve lokal olarak oluşan etanın da kanla transportunun sağlanarak akciğerlerden dışarı atıldığını göstermişlerdir.

Tübül epitelyal hücreleri arasında proksimal tübül hücreleri, oksidan hasara karşı distal tübül hücrelerinden daha fazla hassastırlar ve daha fazla etkilenirler. Hücre hasarı ilk olarak adenin nükleotidlerinin harcanması, ATP seviyelerinin düşmesi ve son olarak da hücre lizisi ile karakterizedir (5).

## **2.3 Çalışmada Kullanılan Etken Maddeler**

### **2.3.1 Ketamin**

Ketamin medulla spinalisteki polisınaptik refleksleri, beynin bazı bölümlerinde uyarıcı nörotransmitter etkilerini inhibe eder. Formatio retikularisten gelen duyuşal uyarıları beyin korteksine gönderen talamusu duyuşal algılardan sorumlu limbik korteksten ayırır (dissosiasyon). İntravenöz (IV) ya da intramusküler (IM) yolundan kullanıldığında analjezi ve disosiyatif durum denilen katalepsiye benzeyen "çevreden kopma" durumuna neden olur. Ketamin yapısal olarak halüsinojen bir madde olan phencyclidine (PCP) analogudur. IV veya IM uygulanır. Maksimum plazma düzeyine IM enjeksiyonundan 10 -15 dakika sonra çıkar. Yağda tiyopentalden daha fazla çözünür, proteine düşük oranda bağlanır. Kalp debisini ve beyin kan akımını artırır. Dağılım yarı süresi kısadır (10 -15 dakika). Karaciğerde oluşan metabolitlerinin bir kısmı aktiftir. Yarılanma süresinin kısa oluşu (2 saat) yüksek hepatik atılımına bağlıdır. Biyotransformasyonun son ürünleri renal olarak atılır. Kan basıncını kalp debisini ve atım hızını artırır. İndirek kardiyovasküler etkileri sempatik stimülasyona bağlıdır. Uygulanan ketamin dozlarından solunum fazla etkilenmez. Ketamin güçlü bir bronkodilatördür (76).

### **2.3.2 Tiyopental**

Sodyum tiyopental güçlü bir intravenöz anestezi madde dir. Barbitürik asit derivesi olan barbitüratlar grubundadır. Retiküler aktivasyon sisteminde depresyon yaparlar. Anestezi indüksiyonunda genellikle IV olarak uygulanırlar. Proteine yüksek oranda bağlanmasına rağmen, yağda çok çözünmesi ve non iyonize fraksiyonunun fazla olması nedeniyle beyindeki en yüksek konsantrasyonuna 30 saniyede ulaşır. Karaciğerde suda çözünen ve aktivitesi olmayan maddelere dönüşürler. Proteine çok bağlanmaları, glomerüler klirensi azaltır. Yağda çok çözünmeleri ise renal tübüler reabsorbsiyonlarını artırır. Renal kan akımı ve glomerüler filtrasyon, kan basıncındaki düşme ile orantılı olarak azalır (76).



### **2.3.3 Propofol**

Propofol intravenöz yoldan kullanılan anesteziik maddedir. Genel anesteziik etkisi gamma-aminobütirik asit inhibisyonunu kolaylaştırmasıyla açıklanır. Propofol (2,6 diisopropyl phenol) iki isopropil grubu bağlanmış bir fenol halkasıdır. Suda erimez. Soya yağı, gliserol ve yumurta lesitini emulsiyonunda (10 % soya yağı, 1.2 % yumurta fosfatidi, 2.25 % gliserol) eritilmiştir. Yağda kolay eridiğinden etkisi çok çabuk başlar. Dağılım yarı süresi 2 -8 dakikadır. Karaciğerdeki konjugasyonu sonucunda inaktif metabolitleri oluşur. Metabolitleri idrarla atılır.

Propofolün potansiyel antioksidan özelliği endojen antioksidan vitamin E' ye benzemektedir. Nöroprotektif etkisi de propofolün fenol halka yapısının antioksidan özelliği ile bağlantılı olabilir. Propofol lipid peroksil radikalleri ile etkileşir ve nisbeten daha stabil olan propofolfenoksi radikalleri oluşturarak, lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Ayrıca propofol lipid peroksidasyonu başlamasında oldukça güçlü reaktif metabolit olan peroksinitriti temizler. Peroksinitrit bakterisidal olduğundan dolayı, propofolün peroksinitrit temizleyici etkisi, muhtemelen bu ilaca fagositoz suprese edici özellik kazandırıyor. Akut akciğer hasarı gibi peroksinitrit oluşumunun önemli olduğu hastalıklarda yararlı olabileceği gösterilmiştir(76).

### **2.3.4 Etomidat**

Etomidat intravenöz yoldan kullanılan anesteziik maddedir. Öteki anesteziik maddelerden önce indüksiyon anesteziisi için kullanılmıştır. Retiküler aktivasyon sisteminde depresyon yapar. gamma-aminobütirik asitin inhibitör etkisini taklit eder. Karboksile imidazol içerdiğinden yapısı diğer anesteziiklere benzemez. İmidazol halkası fizyolojik pH' da yağda çözünürlüğünü sağlar bu sebepten etkisi çok çabuk başlar. Proteine büyük oranda bağlanır. Hepatik mikrozomal enzimler ve plazma esterazı tarafından hızla hidrolize edilir. Hidrolizin son ürünleri idrarla atılır. Kardiyovasküler ve solunum sistemi üzerine etkileri çok azdır (48, 23, 49).

### **2.3.5 İntralipid**

İntralipid yumurta fosfatidi, soya yağı ve gliserol ilavesiyle oluşturulmuş yağ emulsiyonudur. Uzun dönem total parenteral nutrisyonda yüksek yoğunlukta kalori sağlamak, esansiyel yağ asit eksikliğini engellemek ya da yerine koymak için kullanılır. Bu emulsiyonun metabolizması doğal şilomikronların metabolizmasıyla aynıdır ve sonuçta plazma trigliserit konsantrasyonunda yükselmeye sebep olur. Bu trigliseritler serbest yağ asitlerine ve gliserole

hidrolize olurlar. Majör yağ asitleri linoleik asit, oleik asit ve palmitik asittir (76).

### **3. MATERYAL METOD**

#### **3.1 Deney Hayvanları**

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı tarafından deney hayvanları ve araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışma için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu' undan izin alındı. Deneylerde kullanılan sıçanlar Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney hayvanları barınağından temin edildi. Çalışmada kullanılan tüm sıçanlar  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  oda sıcaklığında ve %50 -60 nem ortamında saklandı. Hayvanlar standart laboratuvar yemi ve su ile beslendiler. Deney hayvanlarının ağırlıkları 170 -250 gram arasındaydı; deneylerde toplam olarak 42 adet erkek Wistar albino sıçan kullanıldı.

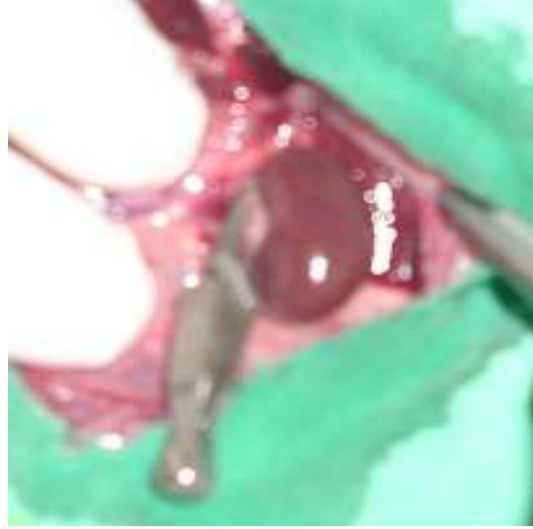
#### **3.2 İskemi Reperfüzyon Hasarı Modeli**

Çalışmanın yapılacağı gün sıçanlar araştırma laboratuvarına getirildi ve tartıldılar. Sıçanlara intraperitoneyal (İP) olarak 60 mg/kg ketamin (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) verilerek anestezi sağlandı. Sıçanlara anestezi uygulandıktan sonra, sırtüstü yatar pozisyonda karın polivinyl povidon ve steril gazlı bezle temizlendi. Yaklaşık 3 cm'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 maddeler 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. Biyokimyasal incelemeler için intrakardiyak kan örneği alınarak deney sonlandırıldı. Çıkarılan böbrek dokusu histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için eşit iki parçaya ayrılarak saklandı. (Şekil 5-10)

Histopatolojik değerlendirme Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalında, diğer biyokimyasal değerlendirmeler Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalında yapıldı.



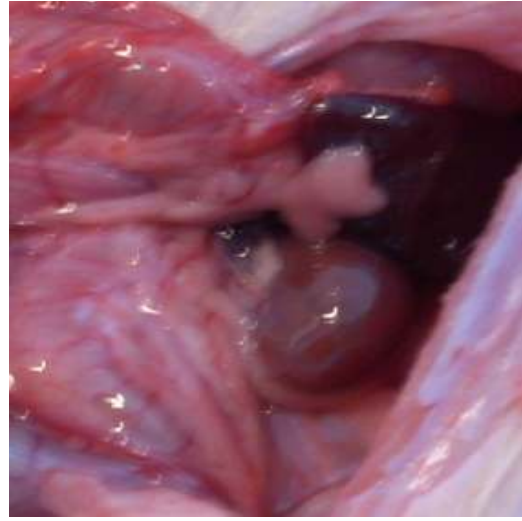
Şekil 5. Median laparotomi insizyonu



Şekil 6. Renal pedikülün klemplenmesi



Şekil 7. Reperfüzyonun 5. dakikasında reperfüze alanların belirginleşmesi



Şekil 8. Reperfüzyonun 60. dakikasında böbrek



Şekil 9. Sol nefrektomi materyali



Şekil 10. Nefrektomi piyesi ikiye bölündüğündeki görünümü

### 3.3 Deney Grupları

Ratlar eşit sayıda (n=6) ve rastgele olarak 7 deney grubuna ayrıldı.

**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 (Ketamin):** Laparotomi, 60 dakika iskemi, reperfüzyondan 15 dakika önce 20mg/kg Ketamin İP yolla uygulandı. 60 dakika reperfüzyon sonrası sol böbreğe nefrektomi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı.

**Grup 4 (Tiyopental):** Laparotomi, 60 dakika iskemi, reperfüzyondan 15 dakika önce 20mg/kg Tiopental İP yolla uygulandı. 60 dakika reperfüzyon sonrası sol böbreğe nefrektomi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı.

**Grup 5 (Propofol):** Laparotomi, 60 dakika iskemi, reperfüzyondan 15 dakika önce 25mg/kg Propofol İP yolla uygulandı. 60 dakika reperfüzyon sonrası sol böbreğe nefrektomi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı.

**Grup 6 (Etomidat):** Laparotomi, 60 dakika iskemi, reperfüzyondan 15 dakika önce 10mg/kg Etomidat İP yolla uygulandı. 60 dakika reperfüzyon sonrası sol böbreğe nefrektomi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı.

**Grup 7 (İntralipid):** Laparotomi, 60 dakika iskemi, reperfüzyondan 15 dakika önce 250mg/kg %10'luk İntralipid İP yolla uygulandı. 60 dakika reperfüzyon sonrası sol böbreğe nefrektomi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı.

### 3.4 Kullanılan İlaçlar

Çalışmada kullanılan ilaçlar şunlardır: Tiopental sodyum (PENTAL SODYUM enjektabl flakon, İ. E. Ulagay İlaç Sanayii Türk A.Ş. Topkapı/ İSTANBUL); Ketamin (KETALAR flakon, Eczacıbaşı İlaç Sanayi ve Ticaret AŞ, Küçükkarıştıran/Lüleburgaz); Propofol (PROPOFOL % 1 FRESENIUS, Fresenius Kabi AB, Uppsala/Sweden); Etomidat (ETOMİDATE-LİPURO, B. Braun Melsungen AG, Germany, İntralipid (İntralipid %10 500 ml FRESENIUS, Fresenius Kabi AB, Uppsala/Sweden)

### **3.5 Biyokimyasal İnceleme Yöntemleri**

Deneklerden MDA, SOD, Katalaz analizi için alınan böbrek dokusu aliminyum folyolara sarılarak azot tankı içine ivedilikle sarkıtıldı. Azot tankının içinde laboratuara ulaştırılan doku örnekleri analiz gününe kadar  $-70^{\circ}\text{C}$ 'de donduruldu. BUN, kreatinin, AST çalışılmak üzere alınan 4 cc'lik kan örnekleri biyokimya tüpü içerisinde laboratuara ulaştırıldı.

### **3.6 Doku Analizleri**

Deney sonunda sıçanların sol nefrektomi materyalinden alınan doku örnekleri tartılıp, 1 g doku 3 hacim soğuk %1.15 M KCl ile homojenize edildi. Homojenatlar 14.000 xrpm'de santrifüj edilerek süpernatantlarda antioksidan enzim düzeyleri ve oksidatif hasarın göstergesi olan MDA düzeyleri ölçüldü.

#### **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 tiobütirik 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 tiyobarbitürik asit ve 0,7 ml saf su konularak  $95^{\circ}\text{C}$ 'de 30 dakika su banyosunda kaynatılır. Tüpler soğutulduktan sonra 1 ml saf su ve 5 ml butanol/piridin (1:15 oranında) ilave edilir ve sonra tüpler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonraki üsteki organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda absorbans okunur ve değerler standart eğriden değerlendirilir (56).

#### **3.6.2 Doku SOD Analizi**

SOD aktivitesi, hemolizatta Fridovich yöntemiyle saptanmıştır. SOD aktivite tayini için, hemolizat 1:20 oranında 0,01 M fosfat tampon ile dilüe edildi, bu dilüsyonda aktivite tayini yapıldı. Reaksiyon karışımı, 1 ml'lik total volümde 25 µl enzim içeren hemolizat, 850 µl ksantin ve p-iyodonitrotetrazolium viyole (INT) içeren mikso substrat ve 125 µl 80 Ü/L

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 absorbanları (A<sub>1</sub>) okundu. Aynı anda kronometre çalıştırılarak 3 dakika sonra son absorbanları (A<sub>2</sub>) tekrar okundu ve değerler standart eğriden değerlendirildi. (26).

### **3.6.3 Doku Katalaz Analizi**

Katalaz aktivitesi, hemolizatta Beutler yöntemiyle saptanmıştır. Reaksiyon karışımı, 1 ml’lik total volümde 50 µl 1 M Tris-HCl pH 8,0 tampon, 900 µl 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve 30 µl saf su ve 20 µl hemolizattan oluşur. Tepkime, ışık yolu 1 cm olan küvetlerde 37°C’ de 230 nm dalga boyunda 5 dakika süreyle her 2,5 dakikadaki absorban değişimi izlenerek gerçekleştirilmiştir (12).

### **3.7 Diğer Biyokimyasal Analizler**

Plazma BUN, Kreatinin (Kre) ve AST değerleri ticari DADE-BEHRİNG dimension-RLMax otoanalizator ve kitleri kullanılarak ölçüldü.

### **3.8 Histopatolojik Olarak İncelenmesi**

Histopatolojik inceleme için doku örnekleri % 10’ luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonunda 24 saat fiske 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 (72).

### 3.9 İstatistik

İstatistiksel analizin yapılmasında bilgisayar programı olarak (SPSS Inc., Chicago, IL; USA) kullanıldı. Sayısal değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde sunuldu. Biyokimyasal verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sırasında gruplar arasındaki farkların incelenmesinde Kruskal-Wallis testi, iki grup arasındaki farkın belirlenmesinde de Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kruskal-Wallis testi için  $p < 0.01$  değerleri ve Mann-Whitney U testi için  $p < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1 MDA Değerleri Üzerine Etkiler

Böbrek dokusunda tespit edilen MDA değerleri incelendiğinde 0,07993 nmol/mg protein ile 1,65648 nmol/mg protein arasında değişen değerler elde edilmiştir. Sham, propofol, tiyopental gruplarında MDA değerlerinin düşük olduğu, kontrol grubunda ise yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ortalama MDA değerleri hesaplandığında en düşük MDA değerinin propofol grubunda (0,2941±0,06492 nmol/mg protein) olduğu en yüksek değer ise kontrol grubunda (1,0693±0,20243 nmol/mg protein) olduğu saptanmıştır. (tablo III, Şekil 11.)

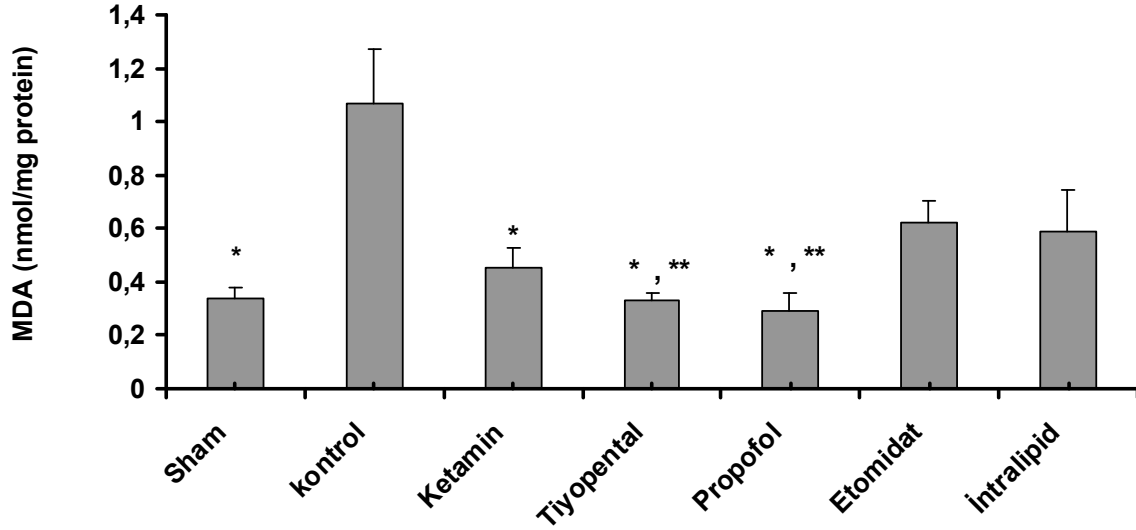
Tablo III: Böbrek dokusunda tespit edilen MDA değerleri (nmol/mg protein)

	1	2	3	4	5	6	Ortalama±sd
<b>Sham</b>	0,25606	0,37251	0,51039	0,22555	0,29097	0,35797	0,3356±0,04197 *,**
<b>Kontrol</b>	0,82905	1,65648	0,58567	0,48969	1,40885	1,44573	1,0693±0,20243
<b>Ketamin</b>	0,44462	0,66366	0,41871	0,64589	0,19572	0,36568	0,4557±0,07225 *
<b>Tiyopental</b>	0,38746	0,41723	0,24992	0,26456	0,35582	0,31940	0,3324±0,02730 *,**
<b>Propofol</b>	0,26368	0,07993	0,45471	0,14884	0,46571	0,35166	0,2941±0,06492 *,**
<b>Etomidat</b>	0,85112	0,41725	0,83049	0,73891	0,43821	0,45521	0,6219±0,08429
<b>İntralipid</b>	0,55976	0,36483	1,35754	0,49043	0,31708	0,42975	0,5866±0,15819 *

\*: Kontrol grubuna göre MDA düzeyi anlamlı derecede düşük ( $p < 0.05$ )

\*\* : Etomidat grubuna göre MDA düzeyi anlamlı derecede düşük ( $p < 0.05$ )

Gruplar arasındaki fark, istatistiksel olarak Kruskal-Wallis test ile incelendiğinde ( $P=0.002$ ) anlamlı bulunmuştur. Gruplar arasındaki fark karşılıklı olarak Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında Sham, Ketamin, Tiyopental, Propofol ve İntralipid grupları MDA değerleri kontrol grubuna göre belirgin oranda düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Sham, Propofol, Tiyopental gruplarının MDA değerleri Etomidat grubuna göre de anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Gruplar arasındaki diğer karşılaştırmalarda anlamlı fark saptanmamıştır.



\*:Kontrol grubuna göre MDA düzeyi anlamlı derecede düşük ( $p < 0.05$ )  
 \*\*:Etomidat grubuna göre MDA düzeyi anlamlı derecede düşük ( $p < 0.05$ )

Şekil 11. Gruplarda MDA aktivitesi

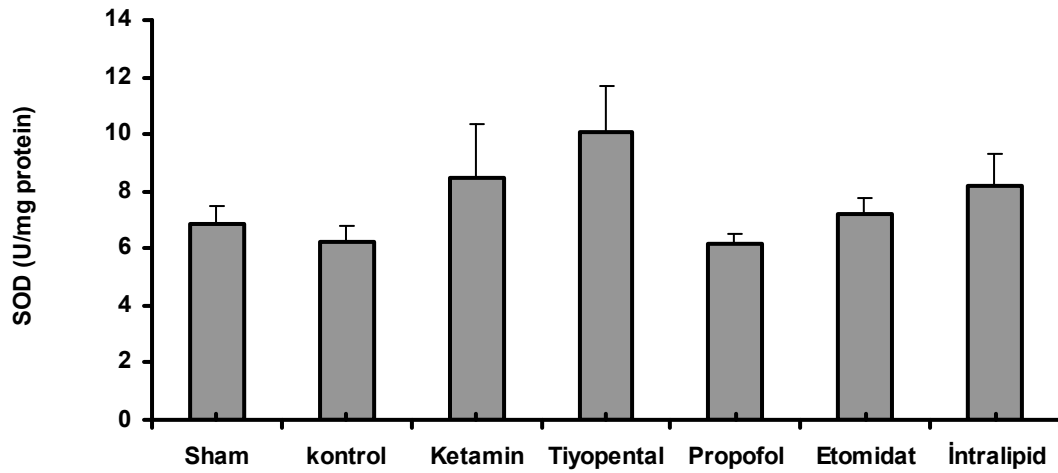
#### 4.2 SOD Değerleri Üzerine Etkiler

Böbrek dokusunda tespit edilen SOD değerleri incelendiğinde 3,71292 Ü/mg protein ile 17,61895 Ü/mg protein arasında değişen değerler elde edilmiştir. Ortalama SOD değerleri hesaplandığında en düşük SOD değerinin propofol grubunda ( $6,1647 \pm 0,36941$  Ü/mg protein) olduğu en yüksek değer ise Tiyopental grubunda ( $10,0496 \pm 1,63964$  Ü/mg protein) olduğu saptanmıştır. (tablo IV, Şekil 12. )

Tablo IV Böbrek dokusunda tespit edilen SOD değerleri (Ü/mg protein)

	1	2	3	4	5	6	Ortalama±sd
<b>Sham</b>	3,71292	7,50425	6,80592	8,02755	8,11963	6,86790	6,8397 ±0,66507
<b>Kontrol</b>	5,26896	4,30908	6,49264	8,38994	6,33551	6,48917	6,2142 ±0,56050
<b>Ketamin</b>	17,61895	8,62671	5,47528	6,19658	5,62005	7,36670	8,4841 ±1,89035
<b>Tiyopental</b>	4,65999	10,99931	16,78117	10,83621	8,38424	8,63663	10,0496 ±1,63964
<b>Propofol</b>	7,29936	5,24468	6,01825	7,26122	5,75256	5,41221	6,1647 ±0,36941
<b>Etomidat</b>	9,59722	6,02162	7,28516	8,00858	6,36942	6,11243	7,2324 ±0,56753
<b>İntralipid</b>	11,30556	5,16627	5,91887	11,69066	8,23976	6,87622	8,1996 ±1,12532

Kruskall-Wallis test ile gruplar arasında fark istatistiksel olarak incelendiğinde  $p>0.01$  ( $p=0.253$ ) olarak bulunmuştur. Gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmadığından ikili karşılaştırmalı testler uygulanmamıştır.



Gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark yoktur.

Şekil 12. Gruplarda SOD aktivitesi

### 4.3 Katalaz Değerleri Üzerine Etkiler

Böbrek dokusunda tespit edilen Katalaz değerleri incelendiğinde 15,70888 Ü/mg protein ile 160,29143 Ü/mg protein arasında değişen değerler elde edilmiştir. Propofol, Tiyopental ve Ketamin gruplarında Katalaz değerlerinin düşük olduğu, Sham grubunda ise yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ortalama Katalaz değerleri hesaplandığında en düşük değerinin Propofol grubunda ( $24,8524 \pm 3,0159$  Ü/mg protein) olduğu en yüksek değerinin ise Sham grubunda ( $74,5025 \pm 5,2631$  Ü/mg protein) olduğu saptanmıştır. (Tablo 5, Şekil 13.)

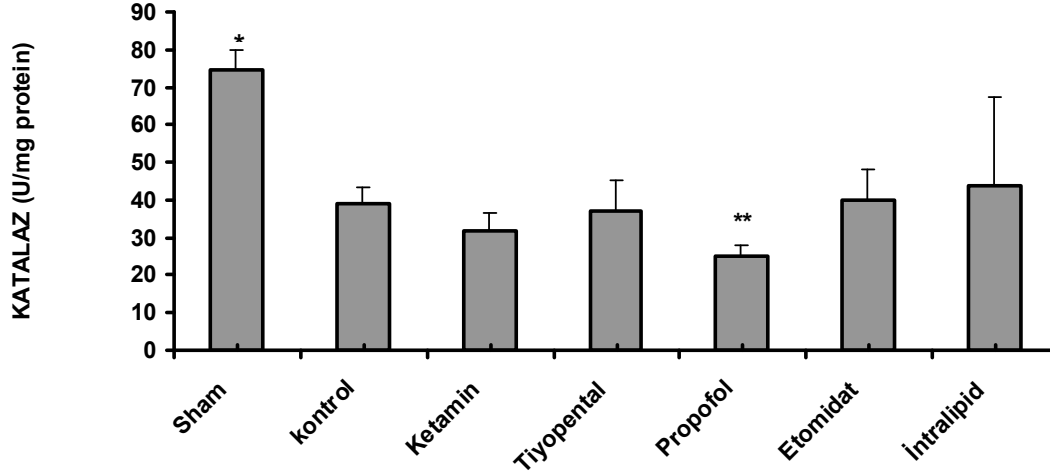
Tablo V Böbrek dokusunda tespit edilen Katalaz değerleri (Ü/mg protein)

	1	2	3	4	5	6	Ortalama±sd
<b>Sham</b>	60,34388	68,27280	75,63228	93,78398	84,94805	64,03388	74,5025±5,26317 *
<b>Kontrol</b>	41,50760	41,17722	21,45813	50,47943	34,70571	44,70955	39,0063±4,08886
<b>Ketamin</b>	54,34322	32,83323	23,58290	32,21167	21,25704	25,77745	31,6676±4,91350
<b>Tiyopental</b>	24,51186	17,70167	62,95081	61,97457	26,75173	28,76284	37,1089±8,16162
<b>Propofol</b>	15,70888	29,21077	30,97140	30,21710	15,11456	27,89160	24,8524±3,01598 **
<b>Etomidat</b>	29,39211	20,59567	40,98360	79,32533	33,73362	35,23810	39,8781±8,36333
<b>İntralipid</b>	20,19714	10,71872	160,29143	34,25894	20,69735	17,79783	43,9936±23,46797

\*: Kontrol grubuna göre Katalaz düzeyleri anlamlı derecede yüksek ( $p<0.05$ )

\*\* : Kontrol grubuna göre Katalaz düzeyleri anlamlı derecede düşük ( $p<0.05$ )

Kruskall-Wallis test ile gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak incelendiğinde ( $p<0.01$ ) anlamlı bulunmuştur. Gruplar arasındaki fark karşılıklı olarak MannWhitney U testi ile karşılaştırıldığında sham grubu katalaz değerleri kontrol grubuna göre ve ketamin, propofol, etomidat gruplarına göre de belirgin oranda yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Propofol grubunun Katalaz değerleri ise kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Gruplar arasındaki diğer karşılaştırmalarda anlamlı fark saptanmamıştır.



\* : Kontrol grubuna göre Katalaz düzeyleri anlamlı derecede yüksek ( $p < 0.05$ )

\*\* : Kontrol grubuna göre Katalaz düzeyleri anlamlı derecede düşük ( $p < 0.05$ )

Şekil 13. Gruplarda Katalaz aktivitesi

#### 4.4 Serum BUN Değerleri

Serum BUN değerleri incelendiğinde 20 ile 51 mg/dl arasında değişen değerler saptandı. ortalama ve standart sapma değerleri hesaplandığında en düşük ortalama değer 24,83±1,66 mg/dl ile sham grubunda olduğu saptandı. Ortalama en büyük değer ise 46,16 ±1,40 mg/dl ile etomidat grubu olduğu tespit edilmiştir. Sham, kontrol, ketamin, tiyopental, propofol gruplarında tespit edilen BUN değerleri düşük, intralipid ve etomidat gruplarındaki BUN değerleri ise yüksek bulunmuştur. (Tablo VI)

Tablo VI Serumda tespit edilen BUN değerleri (mg/dl )

	1	2	3	4	5	6	ortalama±sd
<b>Sham</b>	29	29	20	25	20	26	24,83 ± 1,66
<b>Kontrol</b>	27	26	26	23	28	22	25,33 ± 0,95
<b>Ketamin</b>	23	30	29	24	23	25	25,66 ± 1,25
<b>Tiyopental</b>	24	39	35	38	26	28	31,66 ± 2,64
<b>Propofol</b>	36	27	38	29	26	26	30,33 ± 2,17
<b>Etomidat</b>	48	51	45	42	48	43	46,16 ± 1,40
<b>İntralipid</b>	45	40	42	40	24	42	38,83 ± 3,05

#### 4.6 Serum AST Değerleri

Deney gruplarındaki tüm deneklerin serum AST seviyeleri hesaplandığında 144 -594 U/L arasında değişen değerler tespit edilmiştir. Grupların serum Ast düzeylerinin ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandığında en düşük ortalama değer ketamin grubunda en yüksek ortalama değer ise İntralipid grubunda olduğu tespit edilmiştir. (Tablo VII)

Tablo VII Serumda tespit edilen AST değerleri (U/L)

	1	2	3	4	5	6	Ortalama ± sd
<b>Sham</b>	472	175	144	146	381	187	250,83 ± 57,18
<b>Kontrol</b>	247	244	457	341	472	343	350,66 ± 40,12
<b>Ketamin</b>	210	167	206	203	155	259	200,00 ± 14,98
<b>Tiyopental</b>	375	217	180	387	169	266	265,66 ± 39,04
<b>Propofol</b>	456	92	406	365	220	398	339,50 ± 44,00
<b>Etomidat</b>	319	259	287	180	215	285	257,50 ± 20,99
<b>İntralipid</b>	563	594	498	332	497	188	445,33 ± 63,36

#### 4.7 Serum Kreatin Değerleri

Tüm deneklerin serum kreatin değerleri saptandığında 0,1–0,8 mg/dl arasında değişen değerler tespit edilmiştir. Grupların serum kreatin değerlerinin ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandığında en düşük ortalama değer 0,30 mg/dl ile propofol ve etomidat grubunda, en yüksek ortalama değer ise 0,50 ± 0,02 mg/dl ketamin grubunda olduğu tespit edilmiştir. (Tablo VIII)

Tablo VIII Serumda tespit edilen Kreatin değerleri (mg/dl)

	1	2	3	4	5	6	Ortalama $\pm$ sd
<b>Sham</b>	0,3	0,3	0,5	0,5	0,3	0,6	0,41 $\pm$ 0,05
<b>Kontrol</b>	0,5	0,3	0,6	0,3	0,2	0,5	0,40 $\pm$ 0,06
<b>Ketamin</b>	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,4	0,50 $\pm$ 0,02
<b>Tiyopental</b>	0,4	0,4	0,3	0,3	0,5	0,7	0,43 $\pm$ 0,06
<b>Propofol</b>	0,1	0,3	0,2	0,8	0,3	0,1	0,30 $\pm$ 0,10
<b>Etomidat</b>	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,2	0,30 $\pm$ 0,02
<b>İntralipid</b>	0,7	0,5	0,2	0,4	0,3	0,6	0,45 $\pm$ 0,07

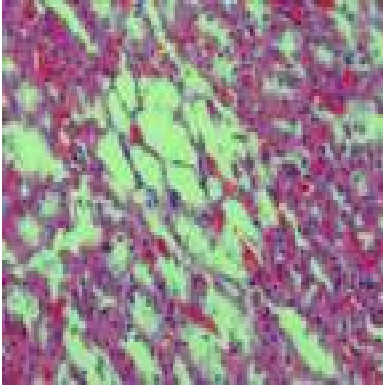
#### 4.8 Histopatolojik Bulgular

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

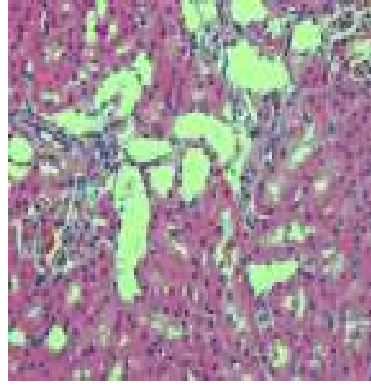
Hematoksilen-Eosin ile boyanmış olan böbrek dokularının hiçbirinde ışık mikroskopuyla epitel nekrozu ve hyalin kast oluşumu izlenmemiştir. Tübüler şişme sham grubunda hiç izlenmemekle beraber diğer gruplarda hafif ve orta dereceli şişme saptanmıştır. İntertisyel ödem sham grubunda izlenmemiştir. En belirgin intertisyel ödem kontrol grubunda orta derecede saptanmıştır. Sham grubunda izlenmeyen tübüler dilatasyon hafif ve orta dereceli olarak diğer gruplarda da izlenmiştir. Medüller konjesyon iskemik gruplarda hafif, orta ve şiddetli izlenmiştir. (Şekil 14-22)

##### 4.8.2 Böbrek Dokusunun H-E Skorları

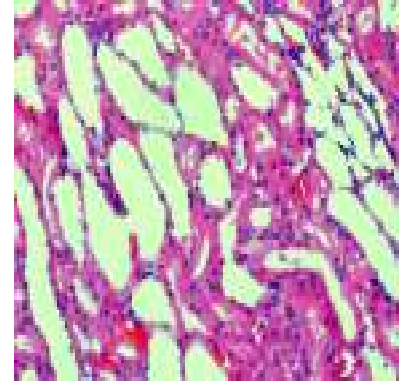
Grupların histopatolojik analizinde sham grubunda hasar oluşmazken, kontrol grubu en fazla hasarın gözlendiği grup olmuştur. Böbrek dokusunun Hematoksilen-Eosin le boyanıp incelenmesi ile elde edilen skorların ortalama değerleri: Sham grubunda 0,0833; Kontrol grubunda 1,4167; Ketamin grubunda 1,125; Tiyopental grubunda 0,5417; Propofol grubunda 0,75; Etomidat grubunda 1,375; İntralipid grubunda 1,25 olarak saptanmıştır (TabloIX).



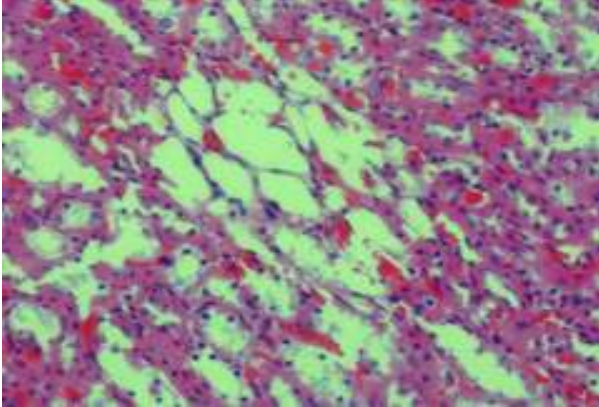
Şekil 14. Normal tübüler yapı



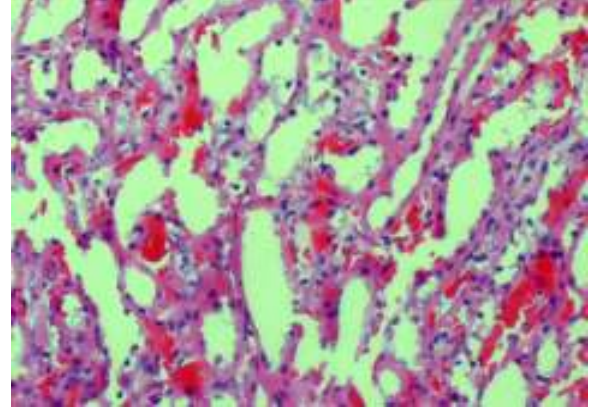
Şekil 15. Hafif dereceli dilatasyon



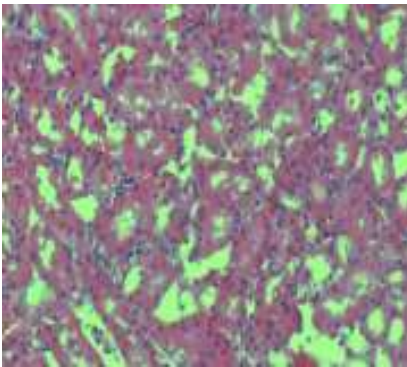
Şekil 16. Orta dereceli dilatasyon



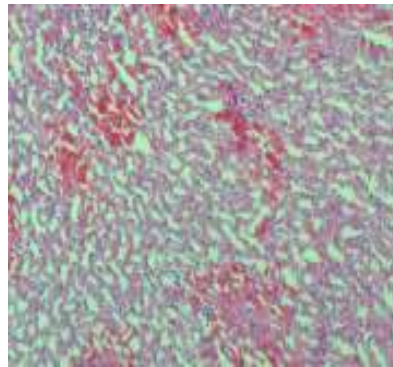
Şekil 17. Hafif dereceli tübüler dejenerasyon



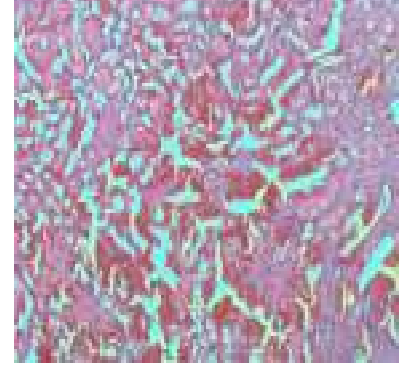
Şekil 18. Orta dereceli tübüler dejenerasyon



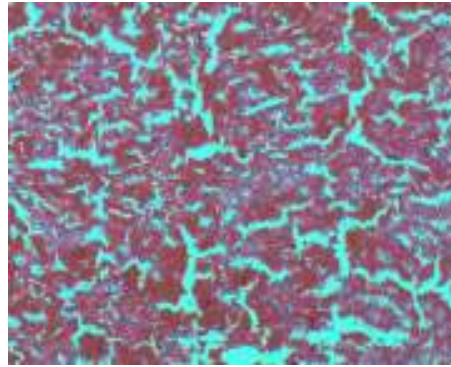
Şekil 19. Normal medüller yapı



Şekil 20. Hafif dereceli konjesyon



Şekil 21. Orta dereceli konjesyon



Şekil 22. Şiddetli dereceli konjesyon



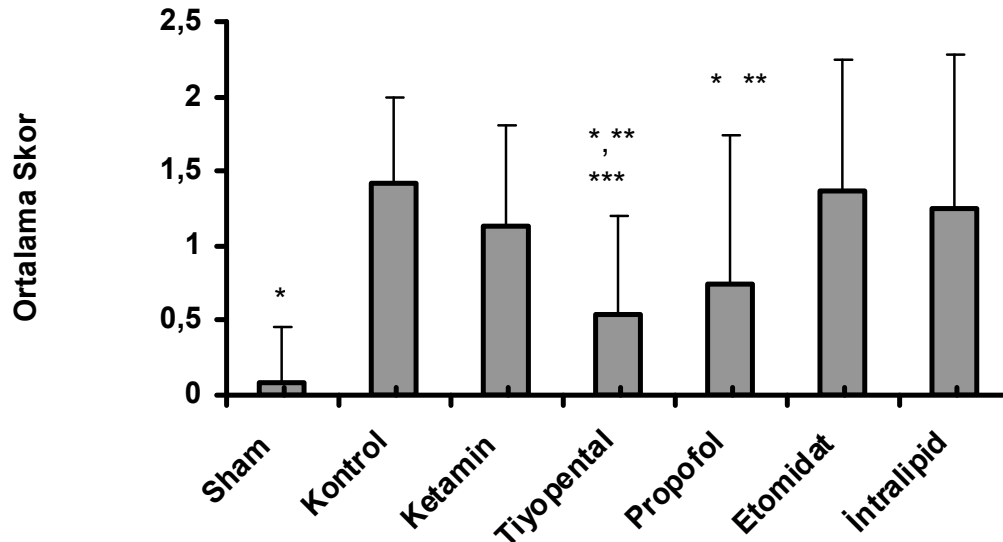
Tablo IX Böbrek dokusu histopatolojik analiz sonuçları

	Sham *	Kontrol	Ketamin	Tiyopental *,**,***	Propofol *,**	Etomidat	İntralipid
<b>Ortalama Değer</b>	0,0833	1,4167	1,125	0,5417	0,75	1,375	1,25
<b>±Standart sapma</b>	±0,38069	±0,58359	±0,67967	± 0,65801	±0,98907	±0,87539	± 1,03209
<b>(Minimum maksimum)</b>	(0-1)	(0-3)	(0-2)	(0-2)	(0-3)	(0-3)	(0-3)

\*: Kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha iyi sonuç ( $p<0.05$ )

\*\* : Etomidat grubuna göre anlamlı olarak daha iyi sonuç ( $p<0.05$ )

\*\*\*: Ketamin ve intralipid grubuna göre anlamlı olarak daha iyi sonuç ( $p<0.05$ )



\*: Kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük ( $p<0.05$ )

\*\* : Etomidat grubuna göre anlamlı derecede düşük ( $p<0.05$ )

\*\*\*: Ketamin ve intralipid gruplarına göre anlamlı derecede düşük ( $p<0.05$ )

Şekil 23. Grupların histopatolojik skorları

## 5.TARTIŞMA

Yoğun bakım tıbbındaki ilerlemeye rağmen akut böbrek yetmezliği halen ciddi bir klinik sorundur. Son 50 yıldaki belirgin gelişmelere rağmen akut böbrek yetmezliğindeki mortalite azalmamıştır. Akut böbrek yetmezliğinin en önemli sebebi, böbrek hücrelerinin hasarına ve sonuç olarak ölümüne sebep olan, iç içe geçmiş kompleks olaylar zincirini başlatan, böbrek iskemisidir.

Renal İ/R hasarı şok, damar cerrahisi, böbrek transplantasyonu ve böbrek transplantasyonu sonrası meydana gelen erken allogreft rejeksiyonu gibi birçok olayda karşımıza çıkar (72).

Böbrek naklinde İ/R hasarı en önemli hususlardan biridir. Gecikmiş greft fonksiyonuyla sonuçlanabilir ki, bu konu birçok çalışmada araştırılmış, greft ömrünü belirgin derecede azalttığı konusunda, görüş birliği sağlanmıştır. Deneysel bulgular greft reperfüzyonunda oluşan erken lezyonların, akut rejeksiyon ve uzun dönemdeki greft aterosklerozuna sebep olduğunu göstermektedir. İskemi ve reperfüzyon, aktive endotel hücreleri ile dolaşan lökositler arasında işlev gören önemli mediatörler olan adezyon ve inflamasyon moleküllerin üretimini artırır. Reperfüzyon hasarı, doku iskemisi ve reperfüzyon sırasında üretilen serbest oksijen radikallerinin ilişkili olduğu olaylar zinciridir. Bu olaylar zinciri, nakledilen böbrekteki endotel hücrelerinin aktivasyonu ve dolaşan lökositlerin bölgeye göçüyle gelişen enflamasyonla devam eder (34).

Ciddi bir klinik sorun olan böbrek İ/R hasarı, transplantasyon cerrahisindeki ilerlemeyle beraber birçok klinik ve deneysel çalışmaya konu olmuştur. Biz de bu çalışmamızda klinikte sıkça kullanılan anesteziik maddeler olan Ketamin, Tiyopental, Propofol ve etomidat maddelerinin böbrek İ/R hasarına etkilerini incelemeyi amaçladık. Bu ilaçlar klinikte sıkça kullanılmasına rağmen bu dört ilacın böbrek İ/R hasarında etkinliklerini karşılaştırmak klinik ya da deneysel çalışma bulunmamaktadır. Böbrek İ/R hasarında inhalasyon anesteziik ajanlarını, propofol ve tiyopental ile karşılaştırmış birkaç çalışma mevcuttur. Basu ve arkadaşları, propofol' ün, böbrek nakli yapılan hastalarda oksidatif stresi ve inflamatuvar yanıtı azaltıldığını tespit etmişlerdir (38, 68,10).

Serbest radikal ilişkili reperfüzyon hasarını araştırdığımız bu çalışmada; biz de ratlarda oluşturduğumuz deneysel İ/R modelinde böbrek İ/R hasarını araştırdık. Çalışmada Wistar tipi erkek sıçanlar kullanıldı. Ağırlıkları ortalama 170 -250 gramdı. Denek olarak sıçan

seçilmesinin nedeni; dayanıklı olmaları, kolay bulunabilir olmaları ve İ/R modellerinde sık olarak kullanılmalarıydı.

Uyguladığımız deney modeli Ozan ve ark. antioksidan olarak Prostoglandin E1 kullanımını incelediği böbrek İ/R hasarı modeli ile benzeşmektedir. Litaratürde çok farklı Böbrek İ/R modeli bulunmaktadır. Ratlara uygulanan iskeminin süresi, reperfüzyonun süresi, tek böbrekte ya da her iki böbrekte iskemi gibi değişken birçok parametre mevcuttur. Ozan ve ark. tek böbreğe uyguladıkları 60 dakika iskemi 60 dakika reperfüzyon modelinde böbrekte İ/R hasarı oluştuğunu ve bu hasarı Prostoglandin E1 kullanarak azalttıklarını biyokimyasal ve histopatolojik olarak göstermişlerdir (57). Avlan ve ark. ise 45 dakika iskemi, 60 dakika reperfüzyon ve konturlateral nefrektomi uygulayarak böbrek İ/R hasarını araştırmışlar (7). Aktoz ve ark. yine 60 dakika iskemi 60 dakika reperfüzyon uygulamışlardır (2). Paller 60 dakika iskemi ve 15 dakika reperfüzyonla İ/R hasarını ortaya koymuştur (61). Litaratürdeki 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 tespit edilmiştir.

Araştırmamızda kullandığımız etken maddeler ketamin, tiyopental, etomidat ve propofol klinikte halen anestezi induksiyonu ve idamesinde kullanılan maddelerdir. Bunlardan etomidat ve propofol'un klinikte kullanılan formları %10'luk lipid emulsiyonları halinde hazırlanmış preperatlardır. Bu maddelerin İ/R hasarına etkilerini araştırdığımız bu çalışmada ayrı bir grup olarak %10 luk lipid içeriği olan İntralipid solüsyonunu da kullandık. Bu maddelerin kullanıldığı diğer çalışmalarda etkilerinin içerdikleri lipid solüsyonu ile karşılaştırılması için benzer grüplamanın yapıldığını görmekteyiz. Szekely, intravenöz anestetik maddelerin postiskemik kadriyak etkilerini karşılaştırdığı çalışmasında bu maddeleri intralipid ile karşılaştırmıştır. Szekely bu çalışmasında intralipidin PMNL aracılığı ile oluşan patlama reaksiyonunu arttırıcı etkisinden bahsetmektedir (78). Mathy-Hartert ise serbest oksijen radikallerine etkilerini araştırdığı çalışmasında propofol ve intralipidi karşılaştırmıştır. İntralipidin düşük düzeyde antioksidan etkisi olduğunu saptamıştır(43). Demiryürek ve ark. da yine benzer olarak lökosit deneylerinde propofol ve intralipidin solunumsal patlamayı baskıladığını bulmuşlardır. Buna benzer birçok karşılaştırmaların yapıldığı yayın mevcuttur (22).

Darendelioğlu, ekstremitede İ/R hasarı ile ilgili çalışmasında ketamin, propofol ve etomidatın hem anestetik dozda hem de subanestetik dozda verildiklerinde İ/R hasarına karşı koruyucu etkiler gösterdiğini ifade etmiştir ancak en belirgin etkileri subanestetik dozlarında

izlenmiştir (20). Biz çalışmamızda ketamini 20mg/kg, tiyopentali 10 mg/kg, propofolü 25 mg/kg ve etomidatı 10 mg/kg subanestezik dozlarında İP yolla uyguladık. %10'luk İntralipidi, propofolün içerdiği fosfatid oranı kadar 250mg/kg dozunda uyguladık. Reperfüzyonun erken fazı olan ve en çok hasar verdiği ilk saatte maksimum etkilerinden faydalanılması amaçlandı. Bu amaçla reperfüzyondan 15 dakika önce bu etken maddeler uygulandı.

Post-iskemik hasar iki basamakta olmaktadır; kan akımının ve ATP'nin azaldığı iskemik dönem ve iskemiye takip eden reperfüzyon dönemi. Yapılan çalışmalar iskemik hasarın önemli bir kısmının oksijen metabolitlerince reperfüzyon safhasında oluştuğunu göstermiştir. Günümüzde serbest oksijen radikalleri aracılığı ile olan hasara ilgi artmıştır (14). Oksijen radikallerinin kısa ömürlü ve böbrek dokusunun kompleks bir yapıya sahip olmasından dolayı oksijen radikallerini doğrudan tespit etmek zordur. Serbest oksijen radikal kaynaklı lipid peroksidasyonu ölçümü ile dolaylı biçimde yapılır. Lipid peroksidasyonu ile oluşan ürünlerden biri MDA'dır (61). Bizde çalışmamızda bu hasarı göstermek ve kullandığımız maddelerin hasarı azaltmadaki etkilerini karşılaştırmak için böbrek dokusu MDA düzeylerini çalıştık. Saptadığımız MDA düzeylerine baktığımızda ortalama en yüksek MDA değerinin kontrol grubunda ( $1,0693 \pm 0,20243$  nmol/mg protein) olduğunu tespit ettik. Sham, ketamin, tiyopental ve propofol gruplarının MDA düzeylerinin ise kontrol grubuna göre belirgin derecede düşük olduğunu saptadık ( $p < 0,05$ ). Tiyopental ve propofol gruplarının MDA düzeylerinin etomidat grubuna göre de belirgin derecede düşük olduğunu belirledik ( $p < 0,05$ ). Bu bulgular neticesinde ketamin, tiyopental ve propofolün serbest radikal kaynaklı lipid peroksidasyonunu belirgin olarak azalttığını söyleyebiliriz. Hatta tiyopental ve propofoldeki bu etkinin etomidata oranla daha belirgin olduğu da söylenebilir.

Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu enzimatik mekanizmalar vardır. SOD, Katalaz, GPX gibi endojen antioksidan özelliği olan bu enzimler radikal temizleyici özellikleriyle koruyucu etki gösterirler. SOD süperoksiti hızlıca hidrojenperoksit katalizler.  $H_2O_2$  ise katalaz ve GPX tarafından su ve oksijene indirgenir. Bu enzimlerin seviyelerinin ölçümü serbest radikal aracılı hasar konusunda indirek bilgi verir.

Çeşitli hastalıkların etkisiyle üretilen SOR üretiminde ve bu üretime bağlı olarak antioksidan enzim aktivitelerinde sürekli bir artıştan söz etmek veya enzim inhibisyonu olabileceği konusunda fikir yürütmek zordur. Canlı hastalık durumunda antioksidan mekanizmalarını uygun derecelerde çalıştırarak kendine savunma yolu seçmekte ya da hastalığın çeşidine veya tipine bağlı olarak antioksidan mekanizmalarının çalışması, enzim sentezinin engellenmesi ya da enzim yapısının değiştirilmesi şeklinde baskılanmaktadır (19).

Bizde çalışmamızda böbrek dokusunda SOD ve katalaz düzeylerini inceledik. Elde ettiğimiz SOD değerleri incelendiğinde en düşük seviyenin propofol grubunda ( $6,1647 \pm 0,3694$  Ü/mg protein) olduğu, en yüksek seviyenin ise tiyopental grubunda ( $10,0496 \pm 1,6396$  Ü/mg protein) olduğu saptanmıştır. Propofol dışındaki tüm grupların SOD düzeyinin kontrol grubuna göre yükseldiği tespit edilmiştir. Gruplarda elde edilen bu değerler birbirleriyle karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark oluşmamıştır.

Enzim-substrat ilişkisi dikkate alındığında, başlangıçta açığa çıkan SOR'un enzim aktivitesini arttırması beklenir. İ/R aşaması devam ederse, açığa çıkan SOR bertaraf edilemediği için oluşan doku hasarı sonucu enzim miktarları azalmaya başlar ve sonuçta aktivite azalabilir. Singh, Ozan ve Aktoz böbrek İ/R hasarını araştırdıkları çalışmalarında iskemi reperfüzyon hasarı oluşturdukları gruplarda MDA düzeyindeki yükselmeye beraber SOD ve katalaz düzeylerinde azalma tespit etmişlerdir (72, 57, 2). Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara benzer olarak İ/R uyguladığımız kontrol grubunda sham grubuyla karşılaştırıldığında MDA düzeylerinin arttığını, SOD ve katalaz düzeylerinin ise azaldığını görmekteyiz. MDA ve katalazdaki bu değişiklikler belirgin olmasına rağmen SOD düzeyindeki azalma belirgin değildir. Bu da bize sham grubunun SOD düzeyinin azalmış olduğunu düşündürmektedir. Diğer çalışmalardan farklı olarak sham grubumuzda tüm gruplara uyguladığımız iskemi reperfüzyon süresi kadar (120 dakika) laparotomi uygulanmıştır. Bu uzamış laparotomi süresi sham grubunda vücudun ilk kullanılan endojen antioksidan savunma mekanizmalarından SOD'un tüketimine sebep olmuş olabilir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz katalaz düzeylerinin incelemesinde ise en yüksek düzeyi sham grubunda ( $74,5025 \pm 5,2631$  Ü/mg protein), en düşük düzeyi ise propofol grubunda ( $24,8524 \pm 3,0159$  Ü/mg protein) tespit ettik. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sham grubunun katalaz düzeyinin belirgin oranda yüksek olduğunu saptadık ( $p < 0,05$ ). Ketamin, tiyopental, propofol gruplarının katalaz düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu ama sadece Propofol grubunun anlamlı derecede düşürdüğünü saptadık ( $p < 0,05$ ). Bu bulgularla ketamin, tiyopental ve propofolün endojen antioksidan madde olan katalazın tüketimini arttırdığını ve bu etkinin propofolle daha belirgin olduğunu söyleyebiliriz.

Çalışmamızda ratlardan alınan kan örneklerinde BUN, kreatin ve AST seviyelerini araştırdık. BUN ve kreatin böbrek fonksiyonlarının göstergesi olduğundan AST ise böbrek İ/R hasarının sistemik etkilerini inceleyebilmek amacıyla çalışıldı. Gruplarda tespit edilen değerler İ/R hasarı oluştuğunu ve bu hasarın BUN, kreatin ve AST düzeylerinde yükselmeye sebep olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda bu parametrelerin sonuçları kıyaslandığında

gruplar arasında bir korelasyonun olmadığı izlendi (Tablo VI-VIII). Bu parametrelerin incelendiği diğer çalışmalara baktığımız da ise araştırmacıların deney sırasında diğer böbreğe nefrektomi uyguladığını ya da reperfüzyon süresini 24 saat ile bir hafta arasında uzun tuttuklarını görmekteyiz (7, 58, 72). Bu sonuç bize, tek böbreğe uyguladığımız 60 dakika iskemi 60 dakika reperfüzyon modelinin sonuçlarının, serumdaki bu testlere tam olarak yansıyamayabileceğini göstermiştir.

Dokulardan elde edilen biyokimyasal sonuçlar incelendiğinde sham grubunun MDA düzeyinin düşük kontrol grubunun ise yüksek olduğu tespit edilmiştir. Her iki grup arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır ( $p<0,05$ ). Katalaz düzeyleri ise sham grubunda yüksek, kontrol grubunda düşük bulunmuştur ve iki grup arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır ( $p<0,05$ ). SOD düzeyleri de kontrol grubunda sham grubuna göre düşük çıkmasına rağmen aradaki fark istatistiki olarak anlamlı değildir. Ayrıca histopatolojik olarak değerlendirilen böbrek dokularında kontrol grubunda oluşmuş olan hasarla sham grubundaki değişiklikler belirgin farklılık göstermektedir ( $p<0,05$ ). Bu sonuçlar yaptığımız çalışmada kontrol grubunda SOR aracılıklı böbrek İ/R hasarı oluşturduğumuzu göstermektedir.

Ketamin grubu MDA ve katalaz düzeyleri kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Hatta MDA düzeyleri Sham grubuna yaklaşmıştır. SOD seviyesinin yükselmiş olarak bulunduğu ketamin grubunda, histopatolojik olarak olumlu sonuçlar alınmasına rağmen kontrol grubuyla arasında anlamlı bir fark oluşmamıştır. Bu sonuç bize ketaminin böbrek İ/R hasarında olumlu etkileri olabileceğini fakat anlamlı bir düzelmeye sağlamadığını göstermiştir.

Ketamin, diğer ilaçlarla uyumlu olmasından ve geniş bir güvenlik aralığı olmasından dolayı deneysel uygulamalarda en geniş kullanım alanı olan anestezi maddelerden biridir(33). Biz de çalışmamızda bu özelliğinden dolayı anestezi madde olarak ketamini tercih ettik. Çalışmada kullandığımız etken maddeler ise iv kullanılan anestezi maddelerdir. Bu anestezi maddelerin subanestezi dozlarının böbrek iskemi reperfüzyon hasarına etkilerini araştırdığımız bu çalışmada kullandığımız anestezi madde olan ketaminin de olumlu etkisi olmuş olabilir. Fakat çalışmamızda bu etkiyi standartize edebilmek için tüm grupların anestezi ketamin ile sağlanmıştır. Herhangi bir etken maddenin uygulanmadığı sham ve kontrol gruplarının sonuçlarını incelediğimizde uyguladığımız anestezi madde olan ketaminden bağımsız olarak böbrekte İ/R hasarı oluştuğunu görmekteyiz. Bundan dolayı elde ettiğimiz sonuçların anestezi madde olan ketaminin etkisinden bağımsız olduğu kanaatindeyiz. Fakat anestezi olarak kullanmış olduğumuz ketaminin uyguladığımız bu

deney modelinde etkilerinin tam olarak ortaya konulabilmesi için diğer etken maddelerle etkileşiminin ve karşılaştırılmasının yapıldığı farklı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Tiyopental grubunda saptadığımız MDA değerleri yine kontrol grubuna göre belirgin düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Ayrıca tiyopental MDA düzeyleri etomidat grubuna göre de belirgin derecede azalmıştır ( $p<0,05$ ). Tiyopental SOD düzeyleri sham ve kontrol gruplarına göre yükselmesine rağmen anlamlı değildir. Katalaz düzeyleri ise Sham grubuna göre belirgin azalmıştır. Histopatolojik bulgulara bakıldığında yine tiyopental grubunda kontrol grubuna göre belirgin derecede düzelme saptanmıştır. Tiyopental grubundaki bu düzelme diğer tüm gruplara göre daha iyi olmasına rağmen ketamin, etomidat ve intralipid gruplarıyla arasında anlamlı derecede fark vardır ( $p<0,05$ ). Yağmurdur ve ark. etomidat, tiyopental ve propofol indüksiyonunun hipoperfüzyon reperfüzyon olayına etkilerini araştırdıkları çalışmalarında yüksek lipid çözünürlüklü madde olan tiyopentalin lipid peroksidasyon inhibisyonu ve serbest radikal aracılı hemolizi inhibe eden antihemolitik aktivitesi ile antioksidan özellikleri gösterebileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca klinik olarak uygun konsantrasyonlarda tiyopentalin, nötrofil kaynaklı serbest oksijen radikallerini belirgin olarak baskıladığını belirtmişlerdir (83). Basu ve ark. ise renal transplantasyon sonrası Oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtın araştırıldığı başka bir çalışmada propofolün tiyopentale göre inflamatuvar yanıtı azaltıcı etkisi olduğunu tespit etmişlerdir (10). Biz ise çalışmamızda bu iki grubun arasında belirgin fark saptamadık. Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda elde ettiğimiz verilere dayanarak tiyopentalin ratlarda SOR aracılığı ile oluşan böbrek İ/R hasarını azalttığı ve bu etkisinin etomidata oranla belirgin olduğu tespit edilmiştir.

Propofol grubunun MDA düzeyleri de kontrol ve etomidat gruplarına göre anlamlı derecede düşüktür ( $p<0,05$ ). SOD değerlerinde bir farklılık olmayan propofol grubu katalaz düzeyi ise sham ve kontrol grubuna göre daha düşük çıkmıştır. Propofol grubunun böbrek dokusunun histopatolojik incelemesinde de belirgin düzelenin olduğu izlenmiştir. Ortalama histolojik skorlardaki artış göz önüne alındığında kontrol ve etomidat gruplarına göre istatistiksel olarak da anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Yüksek lipid çözünürlüğüne sahip anestezi madde olan propofol, genel anestezinin indüksiyonunda, sürdürülmesinde ve yoğun bakımlarda mekanik ventilatöre bağlı entübe hastaların sedasyonunda sıklıkla kullanılmaktadır. Kalp, akciğer, beyin, karaciğer ve testis gibi birçok organın İ/R hasarına olumlu etkileri gösterilmiştir. Propofol böbreği de içeren çeşitli dokulardaki oksidatif hasarı sınırlandırabilir. Bununla birlikte propofolün böbrek İ/R hasarına etkisi çok az çalışmada bildirilmiştir. Hui-hua Wang ve ark. yaptığı çalışmada propofolün ratlardaki böbrek iskemi

reperfüzyon hasarını ve renal disfonksiyonu belirgin olarak azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu koruyucu etkileri hemoksijenaz-1 indüksiyonu aracılığı ile olduğunu göstermişlerdir. Propofolün çeşitli organlardaki İ/R hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir. Bulguları propofolün, İ/R hasarı ile oluşan BUN, kreatin ve ortalama histolojik skordaki artışı belirgin derecede azalttığı göstermiştir. Propofol uygulanmasıyla böbrek dokusundaki yapısal değişikliklerin düzeltilmesi, propofolün böbrek İ/R hasarına karşı koruyucu etkilerinin olduğunu ileri sürmektedir. Serbest radikal üretimi ve sonuç olarak lipid peroksidasyonu İ/R hasarında anahtar rol oynamaktadır. Propofolün antioksidan özelliği vardır ve çalışmaların büyük çoğunluğu bu özelliği propofolün fenolik yapısına dayandırmaktadır. Propofolün lipid peroksidasyon inhibisyonunun iki yoldan biriyle olduğunu belirtmişlerdir. Lipid peroksil radikaliyle reaksiyona girerek daha stabil olan fenoksil radikalini oluşturarak ya da İ/R'da hücrel toksisiteden sorumlu önemli molekül olan peroksinitriti uzaklaştırarak etki gösterdiğini söylemişlerdir. Ayrıca propofolün, nötrofillerin aktivitelerini ve kalsiyumun plazma membranından geçişini inhibe edebileceğini öne sürmüşlerdir (82). Yağmurdur ve ark. da çalışmalarında propofolün hipoperfüzyon reperfüzyon olayıyla bağlantılı lipid peroksidasyon inhibisyonu ve serbest oksijen radikalleri ve metabolitlerinin uzaklaştırılmasında propofolün indüksiyon dozlarının birçok avantajı olabileceğini göstermişlerdir (83). D. Runzer ve ark. propofol anestezisi sırasında dokuların antioksidan kapasitelerini araştırdığı çalışmasında yüksek doz propofolün halotanla karşılaştırıldığında eritrosit MDA düzeylerini belirgin olarak azalttığı tespit edilmiş. Yine aynı çalışmada propofolün koruyucu etkisinin tüm dokularda belirgin olduğu, en fazla karaciğer olmak üzere sırasıyla böbrek, kalp ve akciğerde de belirgin koruyucu etkisi olduğu saptanmış. Düşük doz ve yüksek doz propofol karşılaştırıldığında yüksek doz propofolde daha olumlu sonuçlar almışlar. ( Düşük doz 500µg/kg/dak, yüksek doz 2000 µg/kg/dak ). Dokuların farklı yanıt vermesini ise her dokunun lipid peroksidasyon duyarlılığının farklı olmasıyla açıklamışlardır (67).

Propofol ve intralipidin serbest oksijen radikallerine karşı koruyucu etkilerinin araştırıldığı Runzer'in çalışmasında her ikisinin de doz bağımlı koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bu antioksidan etkinin intralipidle düşük düzeyde olduğu tespit edilmiş. İntralipid ve propofol kombinasyonunda düşük konsantrasyonlarda bu etkinin daha belirgin olduğunu saptamışlardır (67). Yine benzer olarak lökosit deneylerinde propofol ve intralipidin doz bağımlı olarak solunumsal patlamayı baskıladığı bulunmuştur. Propofolle izlenen solunumsal patlamadaki etkilerin bir kısmı intralipidde de düşük seviyede izlenmiş ve bu



etkinin Propofol solüsyonun içerisindeki lipid yapısına bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (22).

Yapılmış olan bu çalışmaların sonuçları bizim bulgularımızı desteklemektedir. Araştırmamızda, ratlarda intralipidin düşük düzeyde böbrek İ/R hasarını azaltabileceğini, propofolün ise anlamlı derecede böbrek İ/R hasarını azalttığını tespit ettik. Bununla beraber propofolde sadece etomidata göre olumlu histopatolojik bulgular elde etmişken tiyopentalde etomidat grubuyla beraber ketamin ve intralipide de oranla daha iyi sonuç elde ettik. Sonuçta çalışmamızda literatürle uyumlu olarak propofolün ratlarda böbrek İ/R hasarını azalttığını ve ayrıca bu etkisinin etomidata oranla çok belirgin olduğunu saptadık.

Etomidat özellikle kardiyak hastaların indüksiyonunda tercih edilir. Etomidatın antioksidan özelliğini araştıran çok fazla yayın yoktur. Yağmurdur'un çalışmasında etomidat grubunda MDA düzeylerinin arttığı tespit edilmiş. Postop 24. saatte etomidat ve tiyopental gruplarında AST ve ALT düzeylerinde belirgin artış saptanırken, propofol grubunda belirgin değişiklik saptanmamış (83). Çalışmamızda etomidat grubunun genel değerlendirmesine baktığımız zaman MDA düzeyinde azaltıcı etkisi olmasına rağmen bu etkisi belirgin değildir. SOD düzeyinde ise çok belirgin olmayan bir artışa sebep olmuştur. Katalaz düzeyini ise Sham grubuna göre düşürmüştür. Histopatolojik bulgularda ise neredeyse kontrol grubuna yakın değişiklikler mevcuttur. Elde ettiğimiz bu veriler ışığında Etomidatın ratlarda böbrek İ/R hasarını azaltıcı etkisi olabilir ama bu etki anlamlı değildir.

Intralipidin böbrek İ/R hasarına etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışma yoktur. Bu açıdan bizim çalışmamız örnek olabilir. İnalipidi içerdiği lipid yapısı nedeniyle propofolle karşılaştıran birçok yayın mevcuttur. Propofolde görülen SOR hasarına karşı koruyucu etki düşük de olsa intralipide de izlenmektedir (22,43). Araştırmamızda intralipidle böbrekte MDA düzeyinin azaldığı, SOD seviyesinin yükseldiği, katalaz düzeyinin de azaldığı saptanmıştır. Histopatolojik olarak da çok az düzelme sağlamasına rağmen bu bulguların hiçbiri anlamlı değildir. Sonuç olarak intralipidin ratlarda böbrek İ/R hasarını azaltıcı etkisi olabilir fakat bu etkisi belirgin değildir.

Tüm bulgularımızı karşılaştırdığımız zaman ketamin, tiyopental, propofol, etomidat ve intralipidin böbrek İ/R hasarını azaltıcı etkisinin olabileceği saptanmıştır. Bu azaltıcı etkinin en fazla tiyopental ve propofol gruplarında olduğu tespit edilmiştir. Ketamin ile MDA düzeyinde anlamlı düzelme olmasına rağmen patolojik bulgulardaki düzelme anlamlı değildir. Etomidat ve intralipid ise MDA düzeyinde ve patolojik bulgularda azalmaya sebep olmasına

rağmen bu bulgular anlamlı değildir.

Transplantasyon cerrahisi gibi böbrek İ/R hasarının sıkça izlendiği cerrahi müdahaleler ve diğer klinik durumlarda anestezinin induksiyon ve idamesinde tiyopental ve propofol kullanımı tercih edilebilir. Ancak geniş kapsamlı klinik araştırmalara ve anestezik maddelerin antioksidan etkilerin mekanizmalarını gösterecek deneysel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bizim çalışmamız deneysel açıdan bu etkinin araştırılmaya değer olduğunu göstermiştir.

## 6. SONUÇ

1- Kontrol grubunda, sham grubuna kıyasla MDA değeri anlamlı şekilde yüksek, histopatolojik tablo belirgin şekilde kötü bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Bu durum, uyguladığımız modelle böbrekte iskemi reperfüzyon hasarı oluştuğunu göstermektedir.

2- Tiyopental, kontrol grubuna kıyasla hem histokimyasal olarak hem de histopatolojik olarak ratlarda oluşan bu böbrek İ/R hasarını azaltmaktadır ( $p<0.05$ ).

3- Propofol de kontrol grubuna kıyasla hem histokimyasal olarak hem de histopatolojik olarak ratlarda oluşan böbrek İ/R hasarını azaltmaktadır ( $p<0.05$ ).

4- Tiyopental ve propofolün ratlarda böbrek iskemi ve reperfüzyon hasarını azaltıcı etkisi etomidat ile kıyaslandığında hem histokimyasal olarak hem de histopatolojik olarak belirgindir ( $p<0.05$ ).

5- Tiyopental ve propofol karşılaştırıldığında ise aralarında hem histokimyasal açıdan hem de histopatolojik açıdan belirgin bir fark oluşmamıştır ( $p>0.05$ ). Fakat propofolden farklı olarak tiyopentalin histopatolojik bulguları ketamin ve intralipide oranla daha iyidir ( $p<0.05$ ).

6- Ketamin ratlarda böbrek iskemi reperfüzyon hasarına karşı histokimyasal olarak düzelme ( $p<0.05$ ) sağlamasına rağmen histopatolojik olarak bu düzelme anlamlı değildir ( $p>0.05$ ).

7- Etomidat ve intralipidin, ratlarda, böbrek İ/R hasarını düşük seviyede azaltıcı etkisi olabilir ama bu etki ne histokimyasal olarak ne de histopatolojik olarak belirgin değildir ( $p>0.05$ ).

## KAYNAKLAR

1. Akçetin Z, Busch A, Kessler G, Heynemann H, Holtz J, Brömme H Evidence For Only a Moderate Lipid Peroxidation During Ischemia-Reperfusion of Rat Kidney Due to Its High Antioxidative Capacity, **Urol Res.** 1999; 27: 280-284
2. Aktoz T, Aydoğdu N, Alagöl B et.al., The protective effects of melatonin and vitamin E against renal ischemia-reperfusion injury in rats, **Ren Fail.** 2007, 29: 535-542
3. Alataş O, Şahin A, Çolak Ö et. al. Beneficial effects of allopurinol on glutathione levels and glutathione peroxidase activity in rat ischemic acute renal failure. **J. Int. Med. Res.** 1996, 24(1): 33 -39
4. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; Sep 1; 90 (17): 7915 -22
5. Andreoli SP, McAteer JA. Reactive oxygen molecule-mediated injury in endothelial and renal tubular epithelial cells in vitro. **Kidney Int.** 1990; 38: 5 785 -794
6. Arthur JR, McKenzie RC and Beckett GJ, Selenium in the immune system. **J Nutr.** 2003, 133(5): 1457 -1459
7. Avlan D, Tamer L, Ayaz L et. al, Effects of trapidil on ischemia-reperfusion injury, **J Pediatr. Surg.** 2006, 41: 1686 -1693
8. Baud L, Ardaillou R, Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. **Br Med Bull.** 1993, 49(3): 621 -629
9. Bast A, Haenen GRMM, Cees JAD. Oxidants and antioxidants: State of the art. **The Am J Med.** 1991, 91(3C): 2 -13
10. Basu S, Meisert I, Eggenberger E et. al. Time course and attenuation of ischaemia-reperfusion induced oxidative injury by propofol in human renal transplantation. **Redox Rep.** 2007;12(4):195 -202
11. Becker BF, Reinholz N, Leipert B et. al. Role of uric acid as an endogenous radical scavenger and antioxidant. **Chest.** 1991, 100(3): 176 -181
12. Beutler E, Red cell metabolism, A manual of biochemical methods. Grune and stratton Inc, New York, 1975; 265-276

13. Breckta A, Greenstock CL, Tambo M. Advances on oxygen radicals, and radioprotectors: Mavelli I: Ratilio G: Enzymatic Protection Against Intracellular Oxidative Processes 1984. 65 -80
14. Bulkley GB. Free radical-mediated reperfusion injury: a selective review. **Br J Cancer Suppl.** 1987, 8: 66 -73
15. Chatterjee K, Brown A, Cuzzocrea S et. al. Calpain Inhibitor -1 Reduces Renal Ischemia/Reperfusion Injury in the Rat **Kid. Int.** 2001; 59: 2073 -2083
16. Cheeseman KH, Slater TF: An introduction to free radical biochemistry. **Br Med Bull.** 1993, 49(3): 481 -493
17. Cotran R: Hücre Zedelenmesi Adaptasyon, Basic Pathology Cotran R, Kumar V, Robbins S. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1994, S: 3 -11
18. Çakır M. Aspirin ve vitamin E ( $\alpha$ -Tokoferol)'nin farelerde karaciğer total süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerine etkileri. Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 1997. Samsun
19. Çetinkaya A, Kurutaş EB, Bülbüloğlu E ve ark. Deneysel olarak oluşturulan kolit modelinde N-asetilsistein ve L-karnitinin eritrosit antioksidan sistemler üzerine etkileri, **KSÜ TIP FAK Derg.**, 2005, 2; 37-41
20. Darendelioğlu S, Ketamin, propofol ve etomidatın çizgili kas iskemi-reperfüzyon hasarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması, Uzmanlık tezi, Kahramanmaraş Sütçüimam Üniversitesi, Kahramanmaraş, 2008
21. Davies MJ. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. **Biochem Biophys Res Commun.** 2003; 305: 761-70
22. Demiryürek A.T, İ. Cinel, S. Kahraman, M. Tecder-Ünal, Propofol and intralipid interact with reactive oxygen species: a chemiluminescence study, **Br J Anaesth.** 1998 (80) 649 -654
23. Dural EÖ: Farmakoloji. Nobel tıp, İstanbul, 2002; 134 -136
24. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. **Lab Invest.** 1982, 47(5): 412 -426

25. Frei B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of Action **Am J Med.** 1994, 97 (3A); 5-12.
26. Fridovich I, Superoxide radical: an endogenous toxicant, **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, 1983, 23; 239 -257
27. Green CJ, Healing G, Simpkin S et. al. Increased Susceptibility to Lipid Peroxidation in Rabbit Kidneys: A Consequence of Warm Ischemia and Subsequent Reperfusion. **Comp. Biochem. Physiol.** 1986, 83(3): 603 -606
28. Greene EL, Paller MS: Oxygen Free Radicals in Acute Renal Failure. **Miner Electrolyte Metab.** 1991, 17(2): 124 -132
29. Gonzales R, Auclair C, Voisin E et. al. Superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in red blood cells from patients with malignant diseases. **Cancer Res.** 1984. 44(9):4137 -4139
30. Granger DN, Rutili G, McCord JM: Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. **Gastroenterology** 1981, 81(1): 22 -29
31. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? **Lancet.** 1994, 344(8924): 721 -724
32. Hartmann A, Yatsu F. And Kuschinsky W et. al.; Microcirculatory disturbance and leukocytes in Cerebral ischemia and basic mechanisms, **Spinger-Verlag Press**, Berlin, Heidelberg 1994; 405-410
33. Hedenquist P, Hellebrekers L, Laboratory animal analgesia, anesthesia and euthanasia, Handbook of laboratory animal science, Hau J, Hoosier GLV, second edition, CRC Pres LLC, Florida, 2003, 413 -431
34. Hourmant M., N. Vasse, B. Le Mauff, J.P. Soulillou, The role of adhesion molecules in ischemia-reperfusion injury of renal transplants, **Nephrol Dial Transplant.** 1997 (12) 2485-2487
35. Kalra J, Prasad K. Oxygen free radicals and cardiac depression. **Clin Biochem.** 1994, 27(3): 163 -168

36. Kaminski KA, Bonda TA, Korecki J et al. Oxidative stress and neutrophil activation-the two keystones of ischemia/reperfusion injury. **Int J Cardiol.** 2002; 86(1): 41 -59
37. Knight JA, Disease Related to Oxygen-Derived Free Radicals. **Ann Clin Lab Sci.** 1995, 25(2): 111-121
38. Lee HT, Chen SW, Doetschman TC et. al. Sevoflurane protects against renal ischemia and reperfusion injury in mice via the transforming growth factor- $\beta$ 1 pathway. **Am J Physiol Renal Physiol.** 2008 abstract
39. Lee TH, Ayuko OS, Yulei F et. al. : Differential protective effects of volatile anesthetics against ischemia-reperfusion injury in vivo, **Anesthesiology** 2004; 101:6, 1313 -1324
40. Lien YH, Lai LW, Silva AL Pathogenesis of renal ischemia/reperfusion injury: lessons from knockout mice, **Life Sci.** 2003; 74: 543-552
41. Linas SL, Whittenburg D, Repine JE, Role of xanthine oxidase in ischemia/reperfusion injury. **Am J Physiol.** 1990, 258:711-716
42. Liu SL, Wang Y, Wang RR et.al., Protective effect of intralipid on myocardial ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart (Abstract) **Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.** 2008; 20(4): 227-230
43. Mathy-Hartert M., G. Deby-Dupont, P. Hans, C. Deby, Protective activity of propofol, diprivan and intralipid against active oxygen species, **Mediators Inflamm.** 1998 (7) 327-333
44. McCord JM, Oxygen derived free radicals in postischemic tissue injury. **N Engl J Med.** 1985, 312(3): 159 -163
45. McCord J M. The evolution of free radicals and oxidative stress. **Am J Med** 2000; 108(8): 652-659
46. McDUGAL WS., Renal perfusion/reperfusion injuries, **J Urol.** 1988, 140(6): 1325-1330
47. Meister A, Glutathione, Ascorbate, and cellular protection. **Cancer Res.** 1994, 54(7): 1969 - 1975
48. Morgan GE, Mikhail MS: Clinic Anesthesiology. Appleton and Lange, Los Angeles, 1996 132 -147

49. Mueller RA, General Anesthetic Drugs, Principles Of Pharmacology (Munson PL). Chapman and Hall, New york, 1995; 227 -241
50. Murell GA, Francis MJ and Bromley L, Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals, **Biochem J.** 1990, 265(3): 659 -665
51. Nakazwa H, Genka C, Fujishima M, Pathological aspects of active oxygens/free radicals, **Jpn J Physiol.** 1996, 46(1): 15 -32
52. Nauta RJ, Tsimoyiannis E, et al. The role of calcium channel entry blockers in experimental ischemia-reperfusion-induced liver injury, **Ann. Surg.** 1991; 213(2): 137 -142)
53. Neto E.R. , 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, 242-246
54. Nordberg J, Arner ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radic Biol Med.** 2001; 31: 1287– 1312
55. Okada Y, Copeland BR, Fitridge R et al. Fibrin contributes to microvascular obstructions and parenchymal changes during early focal cerebral ischemia and reperfusion. **Stroke** 1994; 25(9): 1847- 1854
56. Okawa H, Ohishi N, Yagi K: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal Biochem.**, 1979, 95: 351 -358
57. Ozan E, Koyutürk L, Sapmaz T, Böbrek iskemi reperfüzyon hasarında antioksidan olarak Prostoglandin E1 kullanımının incelenmesi: deneysel çalışma, **Fırat Tıp Derg.** 2004, 9(3): 67 -71
58. Önal A, Astarçioğlu H, Örmen M et.al., Sıçanlardaki renal iskemi-reperfüzyon hasarında L-karnitinin koruyucu etkisi, **Ulus Travma Derg.** 2004, 10(3):160-167
59. 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(4): 608 -627
60. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **J Lab Clin Med.** 1967, 70 (1): 158 -69.
61. Paller M, Hoidal J, Ferris T, Oxygen Free Radicals in Ischemic Acute Renal Failure in the Rat. **J.Clin. Invest.** 1984; 74: 1156 -1164



62. Rachmilewitz D, Karmeli F, Okon E et. al. A novel antiulserogenic stable radical prevents gastric mucosal lesions in rats. **Gut**, 1994, 35(9):1181 -1188
63. Rangan U, Bulkley GB, Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury. **Br Med Bull**. 1993, 49(3): 700 -718
64. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic Approach To Tissue Injury Mediated By Free Radicals And Other Reactive Oxygen Metabolites. **Am. J. Sur**. 1991; 161(4): 488 -503
65. Reiter R.J. Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain. **Faseb J**. 1995, 9: 526 -533
66. Rice-Evans CA, Diplock AT, Symons MCR. Techniques in free radicals research. Elsevier, Amsterdam, 1991, vol 22.
67. Runzer T.D, Ansley D.M, Godin D.V et. al. Tissue antioxidant capacity during anesthesia: Propofol enhances In Vivo red cell and tissue antioxidant capacity in a rat model, **Anesth Analg**. 2002 (94) 89-93
68. Sánchez-Conde P, Rodríguez-López JM, Nicolás JL et.al. The comparative abilities of propofol and sevoflurane to modulate inflammation and oxidative stress in the kidney after aortic cross-clamping. **Anesth Analg**. 2008, 106(2): 371 -378
69. 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
70. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. **Cerrahpaşa Tıp Fak Derg**. 1996; 27: 41 -50
71. Sekhon CS, Sekhon BK, Singh I. et. al, Attenuation of renal ischemia reperfusion injury by a triple drug combination therapy, **J Nephrol**. 2003 16(1): 63 -74
72. Singh D, K. Chopra, Effect of trimetazidine on renal ischemia/reperfusion injury in rats. **Pharmacol Res**. 2004 50: 623 -629
73. Slater TF. Free-Radical Mechanisms in Tissue Injury. **Biochem. J**. 1984; 222: 1–15
74. Smirnoff N, Pallanca JE. Ascorbate metabolism in relation to oxidative stress. **Biochem Soc Trans**. 1996, 24(2): 472 -478
75. Stocker R. Antioxidant Activities of Bile Pigments. **Antioxid Redox Signal**. 2004; 6(5): 841 -849

76. Stoelting R: Pharmacology and Physiology in Anesthetic Practice 3. edition, Lippincott Williams&Wilkins A Walters Kluwer Company, Philadelphia, 1999; 565 -569
77. Spitz DR, Oberley LW. An assay for superoxide dismutase activity in mammalian tissue homogenates. **Anal Biochem.** 1989;15;179(1): 8 -18
78. 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
79. Tudhope GR. Red cell catalase in health and in disease, with reference to the enzyme activity in anaemia. **Clin Sci.** 1967; 33, 165 -182
80. Valdivielso JM, Crespo C, Alonso JR. et. al. Renal ischemia in the rat stimulates glomerular nitric oxide synthesis, **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** 2001, 280: 771 -779
81. Vannucchi H, Araujo WF, Bemardes MM et. al. Effect of different vitamin E levels on lipid peroxidation in streptozotocin-diabetic rats. **Int J Vitam Nutr Res.** 1999 Jul;69(4):250 -254
82. Wang H, Zhou H, Chen C et. al. Propofol attenuation of renal ischemia/reperfusion injury involves heme oxygenase -1, **Acta pharmacol Sin.**, 2007, 28: 1175 -1180
83. Yagmurdur H., T. Cakan, A. Bayrak et. al. The effects of etomidate, thiopental, and propofol in induction on hypoperfusion-reperfusion phenomenon during laparoscopic cholecystectomy, **Acta Anaesthesiol Scand.** 48 (2004) 772-777
84. Yanbeyi S. Aspirin ve antioksidant butylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun, 1999
85. Zeiher AM, Schachinger V, Minners J, Long term cigarette smoking endothelium dependent coronary arterial vasodilator function, **Circulation.** 1995, 92(5): 1094 -1100
86. Zimmerman B.J, Granger DN. Reperfusion injury. **Surg. Clin. North. Am.** 1992, 72(1): 65 - 83