

**T.C.**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**ALT EKSTREMİTEDE İSKEMİ-REPERFÜZYON**  
**OLUŞTURULAN RATLARDA**  
**DEKSMEDETOMİDİN VE THYMOQUINONE'İN**  
**BÖBREK ÜZERİNE ETKİLERİNİN**  
**KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr. EVREN BÜYÜKFIRAT**

**UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. HARUN AYDOĞAN**

**ŞANLIURFA**

**2013**

**T.C.**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**ALT EKSTREMİTEDE İSKEMİ-REPERFÜZYON**  
**OLUŞTURULAN RATLARDA**  
**DEKSMEDETOMİDİN VE THYMOQUINONE'İN**  
**BÖBREK ÜZERİNE ETKİLERİNİN**  
**KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr. EVREN BÜYÜKFIRAT**

**UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. HARUN AYDOĞAN**

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Kurulu (HÜBAK) tarafından  
12083 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ŞANLIURFA**

**2013**

## TEŞEKKÜR

Yoğun ve zorlu uzmanlık eğitimi boyunca desteklerini esirgemeyen çalışmalarında yardımcı olan, mesleki ve etik açıdan kendilerini her zaman örnek aldığım hocalarım; Tez Danışmanım Yrd. Doç. Dr. Harun Aydoğan, Bölüm Başkanı Yrd. Doç. Dr. Şaban Yalçın ve değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Hasan Hüsnü Yüce, Yrd. Doç. Dr. Ahmet Küçük ve Yrd. Doç. Dr. Nuray Altay'a;

Uzmanlık eğitimine başladığımda destek ve tecrübelerini esirgemeyen değerli kıdemlilerim Dr. Erdoğan Duran, Dr. Ali Çiçek, Dr. Orhan Beyazoğlu, Dr. M. Kenan Erol, Dr. Halil Nacar, Dr. M. Azmi Dalyan ve Dr. Selda Yıldırım'a

Uzmanlık eğitimi boyunca beraber çalıştığımız, her türlü zorlu, yoğun günlerde beraber sıkıntıları, mutlulukları paylaştığımız asistan arkadaşlarım, kardeşlerim, dostlarım Dr. Mahmut Alp Karahan, Dr. Tekin Bilgiç, Dr. İnanç Havlioğlu, Dr. Hüseyin Sert, Dr. Maruf Sürücü, Dr. Zeliha Ayhan ve Dr. Bülent Ayhan'a;

Bilgi ve tecrübelerini bize aktaran anestezi teknisyenlerine, bölüm sekreterlerine, ameliyathane, yoğun bakım ve tüm hastane çalışanlarına;

Tez çalışması sırasında yardımcı olan Biyokimya A.D. ve Patoloji A.D. çalışanlarına; Prof. Dr. Nurten Aksoy, Doç. Dr. Alpaslan Terzi, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Salih Aydın ve Yrd. Doç. Dr. Sezen Koçaslan'a;

Resmi işlemlerde her zaman samimi ve güleryüzlü şekilde yardımcı olan değerli dekanlık personel şubesi çalışanları Murad Alkan, Mehmet Yüksekayla ve Tevrat Zeray'a;

Maddi ve manevi her türlü destek olan anneme, babama, kardeşlerime;

Eşime ve oğluma,

Sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr. Evren BÜYÜKFIRAT

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>SAYFA</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	i
<b>KISALTMALAR</b>	iv
<b>TABLO LİSTESİ</b>	vi
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	vii
<b>RESİMLİSTESİ</b>	viii
<b>GRAFİK</b>	ix
<b>ÖZET</b>	x
<b>ABSTRACT</b>	xii
<b>1.GİRİŞ VE AMAÇ</b>	1
<b>2.GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1 İskemi/Reperfüzyon Hasarı (İRH)	3
2.1.1 Geri Dönürlü Zedelenme	4
2.1.2 Geri Dönürlsüz Zedelenme	5
2.1.3. Ekstremitte İskemi Reperfüzyon Fizyopatolojisi ve Uzak Organ Hasarı	7
2.2. Böbreğin Yapısı ve Fonksiyonları	10
2.3 Turnikenin Kullanımı ve Etkileri	13
2.3.1 Turnike Kullanımıyla Oluşabilen Problemler ve Komplikasyonlar	14
2.3.2 Turnike Uygulamasının Kontraendike Olduğu Durumlar	17
2.4. Serbest Radikaller ve Oksidanlar	17
2.4.1. Serbest Oksijen Radikalleri	19
2.4.2. Nitrik Oksit (NO)	20
2.4.3.Serbest Radikallerin Biyolojik Hedefleri	20
2.4.4.Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları	22
2.4.4.1.Antioksidan Etki Tipleri	22
2.4.4.2.Antioksidan Sistemler	23
2.4.4.3. Enzimatik Antioksidanlar	24
2.5. Total Antioksidan Seviye (TAS)	25
2.6. Total Oksidatif Stres (TOS)	26
2.7. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)	26
2.8. Thymoquinone	26
2.9. Deksmetomidin	29

<b>3. MATERYAL VE METOD</b>	34
3.1 Çalışma gruplarının oluşturulması	34
3.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı Modeli	34
3.3. Thymoquinone'in Hazırlanması	35
3.4. Deney Grupları ve Protokol	35
3.5. Böbrek Dokularının Histopatolojik İncelenmesi	35
3.6. Histopatolojik Skorlama	36
3.7. TAS Ölçümü	36
3.8. TOS Ölçümü	36
3.9. OSİ Hesaplanması	36
3.10. İstatistiksel Analiz	37
<b>4.BULGULAR</b>	38
4.1. Grupların TAS Değerlerinin Karşılaştırılması	38
4.2. Grupların TOS Değerlerinin Karşılaştırılması	39
4.3. Grupların OSİ Değerlerinin Karşılaştırılması	40
4.4 Grupların Histopatolojik Hasar Skorlarının Karşılaştırılması	41
<b>5.TARTIŞMA</b>	45
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	55
<b>7. KAYNAKLAR</b>	56

## KISALTMALAR

<b>ABY</b>	Akut Böbrek Yetmezliği
<b>ADP</b>	Adenozin Difosfat
<b>AMP</b>	Adenozin Monofosfat
<b>AT-II</b>	Anjiyotensin II
<b>AOP</b>	Arteriyel Oklüzyon Basıncı
<b>ATN</b>	Akut Tübüler Nekroz
<b>ATP</b>	Adenozin Trifosfat
<b>CCl<sub>4</sub></b>	Karbontetrahidroklorür
<b>COX</b>	Siklooksijenaz
<b>DVT</b>	Derin Ven Trombozu
<b>EMG</b>	Elektromyelografi
<b>eNOS</b>	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
<b>FRAP</b>	Ferric Reducing Ability of Plasma
<b>GER</b>	Granüllü Endoplazmik Retikulum
<b>GPx</b>	Glutatyon Peroksidaz
<b>GR</b>	Glutatyon Redüktaz
<b>GST</b>	Glutatyon –S- Transferaz
<b>HMGB-1</b>	High Mobility Group Protein B1
<b>HgCl<sub>2</sub></b>	Civa klorid
<b>i.p.</b>	İntraperitoneal
<b>İRH</b>	İskemi/Reperfüzyon Hasarı
<b>İR</b>	İskemi/Reperfüzyon
<b>LD<sub>50</sub></b>	Median Lethal Doz
<b>LDL</b>	Low-Density Lipoprotein
<b>LO</b>	Lipooksijenaz
<b>MDA</b>	Malondialdehit
<b>MPO</b>	Myeloperoksidaz
<b>NAC</b>	N-Asetilsistein
<b>NO</b>	Nitrik Oksit
<b>NOS</b>	Nitrik Oksit Sentetaz

<b>OAB</b>	Ortalama Arterel Basınç
<b>OSI</b>	Oksidatif Stres İndeksi
<b>ROS</b>	Reaktif Oksijen Türevleri
<b>SOD</b>	Süperoksit Dismutaz
<b>SOR</b>	Serbest Oksijen Radikalleri
<b>SSAT</b>	N-1-acetyl-transferase
<b>STZ</b>	Streptozotocin
<b>TAS</b>	Total Antioksidan Seviye
<b>TLR-4</b>	Toll-Like Receptor 4
<b>TOS</b>	Total Oksidatif Stres
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Tumör Nekrozis Faktör alfa
<b>TQ</b>	Thymoquinone

## **TABLO LİSTESİ**

**Tablo 1.** Thymoquinone'in farmakolojik özelliklerinin bildirildiği çalışmaların derlemesi 29

**Tablo 2.** Gruplar Arası TAS, TOS, OSİ ve Histopatolojik Hasar Skorları Karşılaştırılması 38



## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Ksantin-hipoksantin metabolizması ve serbest oksijen radikal oluşum şeması	5
Şekil 2. İskemik ve ATN patogeneğinde rol oynayan faktörlerin şematik görünümü	10
Şekil 3. Thymoquinone'nin kimyasal yapısı	28
Şekil 4. Deksmetomidin kimyasal yapısı	30

## RESİM LİSTESİ

<b>Resim 1.</b> Sham Grubu Böbrek Histopatolojik İncelenmesi	42
<b>Resim 2.</b> Kontrol Grubu Böbrek Histopatolojik incelenmesi	43
<b>Resim 3.</b> Deksmetomidin Grubu Böbrek Histopatolojik İncelenmesi	43
<b>Resim 4.</b> Deksmetomidin+Thymoquinone Grubu Böbrek Histopatolojik İncelenmesi	44
<b>Resim 5.</b> Thymoquinone Grubu Böbrek Histopatolojik incelenmesi	44

## GRAFİK LİSTESİ

<b>Grafik 1:</b> Gruplar arası TAS değerlerinin karşılaştırılması	39
<b>Grafik 2:</b> Gruplar arası TOS değerlerinin karşılaştırılması	40
<b>Grafik 3:</b> Gruplar arası OSİ değerlerinin karşılaştırılması	41

## ÖZET

### ALT EKSTREMİTEDE İSKEMİ-REPERFÜZYON OLUŞTURULAN RATLARDA DEKSMEDETOMİDİN VE THYMOQUİNONE'İN BÖBREK ÜZERİNE ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

**Dr. Evren BÜYÜKFIRAT**

**Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi**

**Amaç:** Bu çalışmada alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan ratlarda Deksmetedomidin ve Thymoquinone'in böbrek üzerine etkilerini karşılaştırılması amaçlandı.

**Materyal ve Metod:** Çalışmaya, Wistar albino cinsi 50 rat dahil edildi. Ratlar; Sham (n=10), Kontrol (n=10), Thymoquinone (TQ 20 mg/kg, n=10) Deksmetedomidin (Dex 25 mcg/kg, n=10) ve Deksmetedomidin-Thymoquinone (Dex-TQ 20 mg/kg Thymoquinone ve 25 mcg/kg Deksmetedomidin n:10) gruplarına ayrıldı. Ratlara anestezi verildikten sonra sol alt ekstremitteye 4 saat iskemi ve sonrasında 2 saat reperfüzyon uygulandı Thymoquinone ve Deksmetedomidin iskemi ardından reperfüzyondan 5 dakika önce intraperitoneal olarak uygulandı. Sham grubuna İskemi/Reperfüzyon uygulanmadı. Kontrol grubuna ise İskemi/reperfüzyon uygulandı, serum fizyolojik intraperitoneal verildi. Çalışma bitiminde bütün ratlar sakrifiye edildi ve ratlardan kan ve böbrek numuneleri alınarak histopatolojik değerlendirme yapıldı; Total Antioksidan Seviye (TAS), Total Oksidatif Stres (TOS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) değerleri incelendi.

**Bulgular:** TAS en düşük Kontrol grubunda ( $0.07 \pm 0.01$  mmolTroloksEqv/L) en yüksek Sham grubunda ( $0.33 \pm 0.07$  mmolTroloksEqv/L) saptandı ( $p < 0.05$ ). TQ, Dex, Dex-TQ gruplarının TAS değerleri Sham Grubundan anlamlı düşük ( $p < 0.05$ ), Kontrol grubundan ise anlamlı şekilde yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). TQ, Dex, Dex-TQ grupları arasında TAS açısından anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ). TOS en düşük Sham grubunda ( $18.68 \pm 3.41$

$\mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{Eqv/L}$ ) en yüksek Kontrol grubunda ( $36.97\pm 6.26 \mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{Eqv/L}$ ) saptandı ( $p<0.05$ ). TQ, Dex, Dex-TQ gruplarının TOS değerleri Kontrol grubundan anlamlı düşük ( $p<0.05$ ), Sham grubundan ise anlamlı şekilde yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). TQ, Dex, Dex-TQ Grupları arasında TOS açısından anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). OSİ en düşük Sham grubunda ( $5.92\pm 1.89 \text{ AU}$ ) en yüksek Kontrol grubunda ( $54.84\pm 20.67 \text{ AU}$ ) tespit edildi ( $p<0.05$ ). TQ, Dex, Dex-TQ gruplarının OSİ değerleri Kontrol grubundan anlamlı düşük ( $p<0.05$ ), Sham grubundan ise anlamlı şekilde yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). TQ, Dex, Dex-TQ Grupları arasında OSİ açısından anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Böbreklerin Histopatolojik değerlendirmesinde en düşük hasar Sham grubunda en yüksek ise Kontrol grubunda görüldü. Sham, TQ, Dex, Dex-TQ grupları arasında anlamlı fark saptanmazken ( $p>0.05$ ); bu gruplar Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında histopatolojik hasar skoru Kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük tespit edildi ( $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Alt ekstremite iskemi-reperfzyonunda oksidatif stres nedeniyle uzak organlarda belirgin histopatolojik değişiklikler ortaya çıkar. Thymoquinone ve Deksmetomidin, böbrekler üzerinde iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesinde koruyucu etkiye sahiptirler.

**Anahtar Kelimeler:** İskemi, Reperfüzyon, Oksidatif Stres, Deksmetomidin, Thymoquinone

## ABSTRACT

### COMPRASION OF EFFECTS OF DEXMEDETOMIDINE AND THYMOQUINONE ON KIDNEY AT HIND LIMB ISCHEMIA - REPERFUSION GENERATED RATS

Evren BÜYÜKFIRAT, MD

Expertises Thesis, Department of Anesthesiology and Reanimation

**Background:** In this study it is aimed to compare the effects of Dexmedetomidine and Thymoquinone on kidney at hind limb ischemia/reperfusion injury generated rats

**Materials and Methods :** Fifty Wistar albino rats were included to the study. Rats were divided into groups as Sham (n=10), Control (n=10), Thymoquinone (TQ 20 mg/kg, n=10) Dexmedetomidine (Dex 25 mcg/kg, n=10) and Dexmedetomidine-Thymoquinone (Dex-TQ 20 mg/kg Thymoquinone + 25 mcg/kg Deksmetedomidin n=10). After anesthesia was given to the rats, ischemia was performed to left hind limb for 4 hours and then 2 hours reperfusion applied. Thymoquinone and Dexmedetomidine were administered intraperitoneally after the end of 4 hours ischemia and 5 minutes before start of reperfusion. Ischemia-reperfusion was not performed to the sham group. In Control Group ischemia-reperfusion was performed and saline was administered intraperitoneally. At the end of study all rats were sacrificed. Blood and kidney samples were taken to evaluate Total Antioxidant Status (TAS), Total Oxidant Status (TOS) Oxidative Stress Index (OSI) values and histopathological examination.

**Results:** When TAS values were measured; the highest values found in Sham Group ( $0.33\pm 0.07$  mmolTroloksEqv/L) and the lowest values found in the Control Group ( $0.07\pm 0.01$  mmolTroloksEqv/L) significantly ( $p<0.05$  for all). TAS values of TQ, Dex, Dex-TQ groups were significantly lower ( $p<0.05$  for all) than those of Sham Group and significantly higher than those of Control Group ( $p<0.05$ ). There was no statistically significant difference between TQ, Dex, Dex-TQ groups regarding to TAS values ( $p>0.05$ ). TOS values were

measured and they were the highest in the Control Group ( $36.97 \pm 6.26 \mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{Eqv/L}$ ) and the lowest in the Sham Group ( $18.68 \pm 3.41 \mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{Eqv/L}$ ) ( $p < 0.05$  for all). TOS values of TQ, Dex, Dex-TQ groups significantly lower than those of the Control Group ( $p < 0.05$ ) and statistically significantly higher than those of the Sham Group ( $p < 0.05$ ). There was no statistically significant difference between TQ, Dex, Dex-TQ groups regarding to TOS values ( $p > 0.05$ ). OSI values were the highest in Control Group ( $54.84 \pm 20.67 \text{ AU}$ ) and the lowest in the Sham Group ( $5.92 \pm 1.89 \text{ AU}$ ). OSI values of TQ, Dex, Dex-TQ groups significantly lower than those of the Control Group ( $p < 0.05$ ) and higher than those of the Sham Group ( $p < 0.05$  for all). There was no statistically significant difference between TQ, Dex, Dex-TQ groups regarding to OSI values ( $p > 0.05$  for all). Histopathological examination revealed that the highest injury score was observed in the Control Group and the lowest injury in the Sham group ( $p < 0.05$  for all). There were no statistically significant difference between Sham, TQ, Dex, Dex-TQ groups in the view of histopathologic injury score ( $p > 0.05$  for all) and these groups' scores were significantly lower than those of the Control Group ( $p < 0.05$  for all).

**Conclusion:** Histopathological changes were observed at kidney in hind limb ischemia/reperfusion due to oxidative stress. Thymoquinone and Dexmedetomidine had protective effects on renal tissues at ischemia/reperfusion injury.

**Key Words:** Ischaemia, Reperfusion, Oxidative Stress, Dexmedetomidine, Thymoquinone

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Bir doku veya organın kan akımının herhangi bir nedenle azalmasına bağlı yetersiz perfüzyonu sonucu dokunun oksijenden yoksun kalması ve beslenmesinin bozulmasıyla oluşan tabloya iskemi denir. Bu süreçte dokunun ihtiyacı olan oksijen ve diğer metabolitler sağlanamaz. Oluşan artık maddeler de dolaşım tarafından uzaklaştırılmayıp, doku veya organda birikir. İskemiye maruz kalınan bölgede aerobik metabolizma ile enerji sağlanamaz ve hücreler anaerobik metabolizma yoluyla enerji sağlamaya çalışırlar. İskemi sonrasında, kesilmiş olan kan akımının tekrar sağlanması reperfüzyon olarak adlandırılmaktadır. Anaerobik metabolizma sonucu oluşan metabolitler reperfüzyonla birlikte oksitlenerek dolaşıma karışırlar ve uzak organ hasarında neden olurlar. Buna iskemi/reperfüzyon hasarı (İRH) denir (1,2).

İskemi/Reperfüzyon (İR) sonrası oluşan serbest oksijen radikalleri (SOR)'ne karşı antioksidan enzimlerle vücudun savunma sistemi devreye girer. Bu enzimler (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GPx)) İRH'nda dokuda biriken SOR'nin detoksifikasyonunda görevlidir. İR ile oluşmuş serbest radikallerin hasarına bağlı olarak hücre membranındaki poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu, organellerde Malondialdehit (MDA) birikimi olur. MDA membran yapısına membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olarak zarar verir. Erken reperfüzyon hasarında nötrofil ve makrofaj aktivasyonunu artar ve makrofajlardan proinflamatuvar sitokinlerin salınımını da tetiklenir. Geç dönemde ise sitokinler nötrofil ve T-lenfosit aktivasyonuna yol açıp, sonuçta majör organlarda mikrovasküler endotel hasarına bağlı geçirgenlik artışı, trombosit agregasyonu ve nekroz alanları oluşmasına sebep olur (3).

Başta ortopedik cerrahi olmak üzere birçok cerrahide kullanılan turnike yöntemi, bir İR modelidir. Turnikeyle cerrahi bölgenin kan akımı kesilerek cerrahi girişimin kolaylaştırması, kan kaybını azaltılıp transfüzyon gereksinimini sınırlaması ve operasyon süresinin kısaltılması hedeflenir (4). Turnike kullanımıyla ekstremitede iskemi oluşur, turnikenin kaldırılmasıyla reperfüzyon döneminde lokal olarak masif ödem, kas nekrozu meydana gelirken, reperfüzyonda ilerleyen saatlerde sistemik inflamatuvar yanıt ve kalp, böbrek, respiratuvar sistem gibi çoklu organ yetmezliği şeklinde sorunlar ortaya çıkabilir ve buna bağlı belirgin morbidite ve mortalite artışı olur (1). İRH'nın sistemik komplikasyonu olarak böbrekte hasar oluşabilmektedir. Böbrekteki hasar şiddeti iskemi süresine paralel



olarak artmakta, sonuçta belirgin doku hasarı olmaksızın gelişen prerenal azotemiden, tübüler veya kortikal nekroza bağlı ciddi akut böbrek yetmezliğine kadar değişebilen farklı klinik tablolar karşımıza çıkabilmektedir. Böbrek fonksiyonları açısından riskli olan hasta gruplarında, böbrek üzerindeki hasarı arttıracak major cerrahilerde, transplantasyon gibi böbrek fonksiyonlarının korunması gereken cerrahi girişimlerde kullanılacak anestezi ajanları böbrek üzerindeki etkileri göz önüne alınarak dikkatli seçilmelidir (5,6).

İRH'nın tedavisine yönelik farklı ajanlar denemiş ve genellikle antioksidan özellikteki ajanlar üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Çeşitli İR modellerinde ajanların histolojik ve uzak organlar üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Bu çalışmada; cerrahide sıklıkla kullanılan turnike modeli örnek alınıp, anestezi ve yoğun bakım pratiğinde sedasyon amacıyla kullanılan antioksidan özellikteki Deksmetomidin'in ve çeşitli çalışmalarda antioksidan özelliği gösterilen Thymoquinone'in ratlarda ekstremite İRH'nda böbrek üzerindeki etkilerinin histopatolojik ve biyokimyasal olarak karşılaştırılması amaçlandı.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1 İskemi/Reperfüzyon Hasarı (İRH)

İskemi; bir dokunun arteriyel ya da venöz kan akımının pıhtı veya mekanik etken gibi herhangi bir nedenle azalmasına bağlı yetersiz perfüzyonu sonucu dokunun oksijenden yoksun kalması ve beslenmesinin bozulmasına denir. İskemi sonucunda dokunun hipokside kalmasıyla hipoksik doku hasarı ortaya çıkar. İskemiyle beraber hücrede enerji düzeyi düşer, toksik metabolitler dokuda birikip, hücre disfonksiyonu ve sonrasında hücre ölümüne kadar gidebilen biyokimyasal reaksiyonlar başlar. İskemiye bağlı hücrelerde pek çok metabolik ve yapısal değişiklikler oluşmaktadır (1,2).

İskemiyle hücrede oksidatif fosforilasyon bozularak hücre içi adenozin trifosfat (ATP) ve fosfokreatin sentezinde azalmaya neden olur. Sonuçta, asidoz oluşmakta ve boşalan ATP depoları uzun süren iskeminin ardından oluşturulan reperfüzyon sonrası organ canlılığını sürdürmek için yeterli miktarda doldurulamamaktadır. Bu durumda reaktif oksijen türevlerinin (ROS) prekürsörü hipoksantin hücre içi birikiminin artmasına neden olur. İskemi sonrasında o bölgedeki kan akımının yeniden sağlanması (reperfüzyon) ve hücre içine moleküler oksijenin yeniden sunulması ile birlikte ROS türevleri hızla oluşur. Aynı zamanda iskemi endotel hücrelerinde bazı proinflatuvar gen ürünlerinin (lökosit adhezyon molekülü, sitokinler vb.) ve biyoaktif bileşiklerin (endotelin, tromboksan A2, vb.) sentezini artırırken, bazı koruyucu gen ürünlerinin [endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS), siklooksijenaz-2 (COX-2) ve bu enzimlerin ürünlerinin (nitrik oksit (NO), prostasiklin] sentezini baskılamaktadır. Geri dönüşümsüz hücre hasarını önleyebilmek için organa/dokuya yeniden kan akımının sağlanması gerekir. Uzun süren iskeminin sonucunda hücrelerin bütünlüğü bozulup hücre ölümüne neden olur (2,7). Doku kanlanmasının çeşitli ilaçlarla veya mekanik müdahalelerle yeniden sağlanmasına reperfüzyon denir. İskemik bir dokunun yeniden kanlandırılması doku nekrozunun önlenmesi açısından önemli olmasına rağmen, iskemik dokuda kan akımının yeniden sağlanması ile reperfüzyon hasarı ortaya çıkmaktadır. İRH'dan SOR sorumlu tutulmaktadır. İskemik dokunun tekrar kanlanmaya başlaması durumunda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile SOR türevleri hızla oluşması dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar. Bu olaya reperfüzyona bağlı doku hasarı denir (8-10).

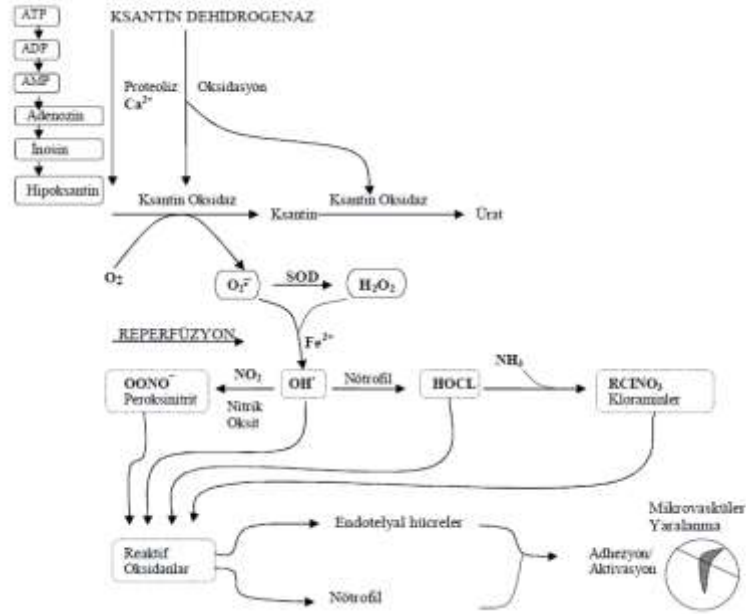
İskeminin süresine ve şiddetine bağlı olarak iki türlü hücresel zedelenme ortaya çıkar (11):

- a) Geri dönüşlü zedelenme
- b) Geri dönüşsüz zedelenme.

### **2.1.1 Geri Dönüşlü Zedelenme**

Normal koşullarda 3-4 dakikalık iskemi, yüksek enerjili fosfat olan fosfokreatinin ve ATP depolarının boşalmasına ve enerji bağımlı membran iyon pompalarının normal iyon gradiyentini gerçekleştirememesi nedeniyle oluşan izo-ozmotik su birikimiyle akut hücrel şişme ortaya çıkar. Bu şişme, inorganik fosfatlar, laktik asit ve pürin nükleozitleri gibi diğer metabolitlerin birikimi ile artan hücre içi ozmotik yükü daha da ilerler (9).

Hücrel ATP de azalma ile birlikte adenozin monofosfat (AMP) artışı fosfofruktokinazı uyarıp anaerobik glikoliz ile glikojenden ATP sentezini arttırarak hücreye enerji sağlar. Glikolizis laktik asit ve fosfat türevlerinin hidrolizi ile inorganik fosfatların birikimine yol açar, sonuçta hücre içi pH'yı düşürür (9). İskemi sırasında devam eden başka bir olay ATP seviyesinin azalmasına karşın adenozin difosfat (ADP) düzeyinin artmasıdır. ADP'ler önce AMP'ye daha sonra adenozin, inozin ve en sonunda hipoksantine dönüşür. Hipoksantin reaktif oksijen radikallerinin prekürsörü olarak hücre içinde miktarı artar (11). Normalde hipoksantin, ksantin dehidrogenaz yardımıyla ksantine dönüştürülür. İskemi sırasında ksantin dehidrogenaz ksantin oksidaza dönüşür. Substrat olarak nikotinamid adenin dinükleotid kullanan ksantin dehidrogenazın aksine ksantin oksidaz oksijen kullanır. Hipoksantin ksantine dönüşümünü katalize edemez, sonuçta dokuda hipoksantin düzeyi aşırı seviyelere çıkar. Reperfüzyonla oksijen tekrar dokuya sunulduğunda fazla miktardaki hipoksantin ksantin oksidaz ile reaksiyona girmesi sonucunda toksik serbest oksijen radikalleri oluşur (9) (Şekil 1 ).



**Şekil 1.** Ksantin-hipoksantin metabolizması ve serbest oksijen radikal oluşumu (12)

Ribozomlar granüllü endoplazmik retikulumdan (GER) ayrılır ve polizomlardan monozomların oluşumu ile protein sentezinde azalma olur. Hipoksinin devam etmesi ile mitokondrial fonksiyonun daha da kötüleşip membran geçirgenliğinin artışı sonucunda morfolojik hasar artar. Hücrenin ana hatları, mikrovillus gibi ultrastrüktürel özelliklerin kaybı ve hücre yüzeyinde kabarcıkların oluşumu ile bozulur. Tüm hücreler mitokondri, endoplazmik retikulum ve ozmotik regülasyonun bozulması nedeniyle şişerler. İskemi düzeltilir ve O<sub>2</sub> düzeyleri normale dönerse tüm bu bozulmalar geri dönebilir, ancak iskemi ve hipoksi devam ederse ATP'deki azalma şiddetlenir geri dönüşümsüz hasar meydana gelir (13).

### 2.1.2 Geri Dönüşsüz Zedelenme

Morfolojik incelemede mitokondrilerin ileri derecede vakuolizasyonu, plazma zarlarının aşırı yıkımı, lizozomların şişmesi görülür. Mitokondri matriksinde şekilsiz yoğunlaşmalar gelişip, iskemiden sonra bu erken geri dönüşsüz zedelenme bulguları 30-40 dakikada gözlemlenebilir (9).

Kritik iskemi zamanı, doku canlılığının sürdürülebildiği maksimum iskemi süresi olarak tarif edilir ve ortalama %50 doku kaybına neden olan iskemik zaman dönemidir. Hücrenin metabolik aktivitesi ve adaptasyon mekanizmalarına göre kritik iskemi süresi

farklılık göstermekle birlikte uzun süreli iskemide geri dönüşümsüz hasar ve nekroz kaçınılmazdır (11).

Membran geçirgenliğinin artmasıyla membranlardan protein, temel koenzimler ve ribonükleik asitler kaybolur. Aynı zamanda hücresel yaşamı sürdürmek için gerekli olan ATP'nin yeniden yapımında kullanacağı hücre içi yüksek enerjili fosfatlar yitirilir (14).

pH düşmesiyle lizozom membranlarında zedelenmeye olur. Enzimler sitoplazmaya geçerek asit hidrolazların aktivasyonu ile hücre bileşenlerinin enzimatik sindirimine bu da ribonükleoprotein, deoksiribonükleoprotein ve glikojen kaybına sebep olur. Sonuçta ölü hücreler, myelin şekiller biçiminde büyük fosfolipid kitlelerine dönüşüp, ya diğer hücrelerce fagosite edilir ya da yağ asitlerine parçalanır. Yağ asitlerinin artıklarının kalsifikasyonu kalsiyum sabunlarının oluşmasına neden olur. Mitokondriyum işlev bozukluğunun yeniden kanlanma ve oksijenlenmeye karşın düzelmeyişi (oksidatif fosforilasyon ve ATP rejenerasyon yokluğu) ve sonrasında membran işlevlerinde belirgin bozuklukların gelişimi hücrede geri dönüşsüz zedelenmeyi gösterir (9).

Geri dönüşsüz hücre zedelenmesinde mekanizmalar ne olursa olsun sonuç aşırı miktarda kalsiyumun hücre içine girmesidir. Membran zedelenmesiyle kalsiyum yüksek yoğunlukta bulunduğu hücre dışından hücre içine geçer. Reperfüzyon olsa bile kalsiyum akümüülasyonu devam eder. Kalsiyum mitokondriler tarafından alınıp; hücresel enzimleri inhibe eder, proteinleri denatüre eder ve koagülasyon nekrozu için karakteristik değişikliklere neden olur. Kalsiyum iyonları hücreyi ölüme götüren biyokimyasal değişikliklerde önemli bir mediatördür. Membran bütünlüğünün bozulması ayrıca hücre içinde bulunan süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin kaybını da hızlandırmaktadır. Bu durumdaki hücre reperfüzyon sırasında oluşumu artan oksijen radikallerinin etkisine daha duyarlı hale gelir. Bu nedenle iskemi şiddetinin artmasıyla meydana gelen reperfüzyon hasarı da daha çok artmaktadır (9).

Hücre hasarı sonucunda 4 ana sistem etkilenir:

- 1- Hücre membran bütünlüğü, hücre ve organelinin iyonik ve osmotik dengesi
- 2- Aerobik solunum, mitokondrial oksidatif fosforilasyon ve ATP oluşumu
- 3- Protein sentezi

#### 4- Hücrenin genetik aparatı

Hücre ölümünden önce hücresel fonksiyonlar kaybolur. Hasarın morfolojik görünümü, kritik biyokimyasal sistemlerde bozukluklar oluşup geri dönüşümsüz hasar yerleştikten çok sonra belirgin hale gelir. Geri dönüşümsüz hasar 20-60 dakika içinde ışık mikroskopunda görülebilirken, hücre ölümü ancak 10-12 saatte belirginleşir (9).

Geri dönüşümsüz hasarın temelinde iki olay vardır; birincisi belirgin enerji azalmasının neden olduğu olaylar geri dönüşümde yetersizlik, ikincisi membran fonksiyonlarının ileri düzeyde kaybıdır (9).

### **2.1.3. Ekstremité İskemi Reperfüzyon Fizyopatolojisi ve Uzak Organ Hasarı**

Reperfüzyon hasarında iki önemli komponent vardır. Birincisi iskemik sahada oluşan lokal hasar, diğeri yetmezlikle sonuçlanan uzak organ hasarıdır. İskelet kasının kütleli olarak büyük olması ve iskemik hasara en hassas dokulardan olması nedeniyle alt ekstremité İRH'nda önemli rol oynar. Alt ekstremité İRH'nda mikrovasküler disfonksiyon ve kas değişiklikleri birbirleriyle paralel seyredip, prognoz kas hasarı miktarına bağlıdır. Sonuçta meydana gelen inflamatuvar yanıt, geri dönüşümlü zedelenme miktarı ile doğru, nekrotik kas miktarı ile ters orantılıdır. Alt ekstremité İRH'nda lokal ve sistemik etkiler gözlenir. Lokal etkiler iskelet kası ve damar endotelinde gözlenirken, sistemik etkiler başlıca akciğér, kalp, beyin ve böbrekler olmak üzere tüm dokularda gözlenebilir (15).

İskemik kas dokusunda öncelikle glikojen ve kreatin fosfat azalırken bu safhada myonekroz oluşumu azdır. Daha sonra, ATP azalmasıyla birlikte, kas nekrozu hızla artar. 6 saatlik kas iskemisini takiben ATP deposunda %80 azalma ve kas dokusunun tümünde nekroz gözlenir.

Mikrodolaşım değişiklikleri, iskemik dönemde gerçekleşip iskemi süresi ile uyum gösterir. İlk olarak kapiller endotel hücreleri etkilenir ve hem lümen hemde sitoplazmaya doğru uzanan parmaklı çıkıntılar oluşur. İskeminin devamıyla birlikte endotel veziküllerinde artış oluşur. Hücreler arası bağlar zayıflar ve geçitler genişler. İskemide dördüncü saatten sonra mikrosirkülasyonda hücreli etkileşimler başlar. Venöz ve arteriel kılcallar reperfüzyon öncesinde sıkışmış eritrositlerle kapanmış görünümündedir. Eritrosit kümeleri erken reperfüzyonda endotelde hasar oluşturur. Endotel hücrelerinde parçalanma sonucu hücreler arası büyük geçitler oluşur. Reperfüzyonla birlikte özellikle venöz kılcallarda platelet ve

fibrin kümeleri ile karakterize trombotik komplikasyonlar meydana gelir. Endoteldeki defektleri platelet kümeleri kapatır. Venlerde lökosit diapedezi oluşur, venöz kılcallarda lökositlerin lenfosit ve monositlerle olan kümeleşmesi oluşur. Kas iskemisi ilerlediğinde ise kası besleyen damarda kalıcı tıkanıklık oluşur. İskemi süresi uzadıkça damarsal geçirgenlik artışı ve ilerleyici intersitisyel ödem meydana gelir (15).

İskemik doku reperfüzyonu inflamatuvar bir cevap doğurur. Ancak doku nekrozundan reperfüzyon döneminden çok iskemik dönem sorumludur. Morbiditeyi reperfüzyon sağlanmış hasarlı ve nekrotik alan miktarı belirler (16).

Uzak organ hasarı İRH'nın önemli sonuçlarından biri olup yüksek mortalite ve morbiditeyle seyreder. Sistemik inflamasyonla hemen her organda hasar oluşabilir. Ancak ilk 24-72 saat içinde akciğer yetmezliği gözlenir. Ayrıca karaciğer, böbrek, santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem ve myokard disfonksiyonu görülebilir. İRH böbrekte oldukça sık karşılaşılan ve ciddi sonuçlara neden olan patolojik süreçlerdendir. İRH hangi mekanizmayla gelişmiş olursa olsun sonuç olarak reversible veya irreversible hücre polarizasyonunda bozulma, apoptozis veya hücre ölümü görülür (15).

Vücutta en iyi perfüze olan organlardan biri olan böbrek, hipoperfüzyona da en çok duyarlı organlardan biridir. Abdominal aort cerrahisinde postoperatif dönemde morbidite ve mortaliteyi etkileyen en önemli komplikasyon olarak böbrek yetmezliği görülür. Aortik cerrahide akut böbrek yetmezliği oluşmasında en önemli fizyopatolojik mekanizma İRH'dır. Böbrek yetmezliğinde aortik kross klemp uygulaması ve iskemik reperfüzyon hasarı önemli yer tutar. İskemi ile başlayan Tümör Nekrozis Faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) artışı ve lökosit aktivasyonu ile karakterize inflamatuvar yanıt end organ hasarında en önemli rolü oynar (15).

İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği; glomerüler filtrasyon hızında azalma, tubuler nekroz, böbrek damarlarında direnç artışı ile karakterizedir. Böbrek kan akımındaki kesilme veya azalma ve sonradan oluşan reperfüzyon ile birlikte çeşitli derecelerde doku hasarı oluşur. Böbrek iskemik reperfüzyon hasarında serbest oksijen radikalleri önemli rol oynamaktadır (15).

İskemik reperfüzyon hasarı öncelikle böbreğin hipoksiye duyarlı kısmından başlar. Böbreğe gelen kan akımının büyük kısmı renal korteksten geçer ve medullanın kanlanmasını sağlayan vasa rectaya çok az kan gider, bu da böbrek medullasını hipoksiye daha duyarlı hale getirir. Böbrekteki hasar öncelikle tubuluslarda oluşur. Sebebi ise iskemiye bağlı gelişen

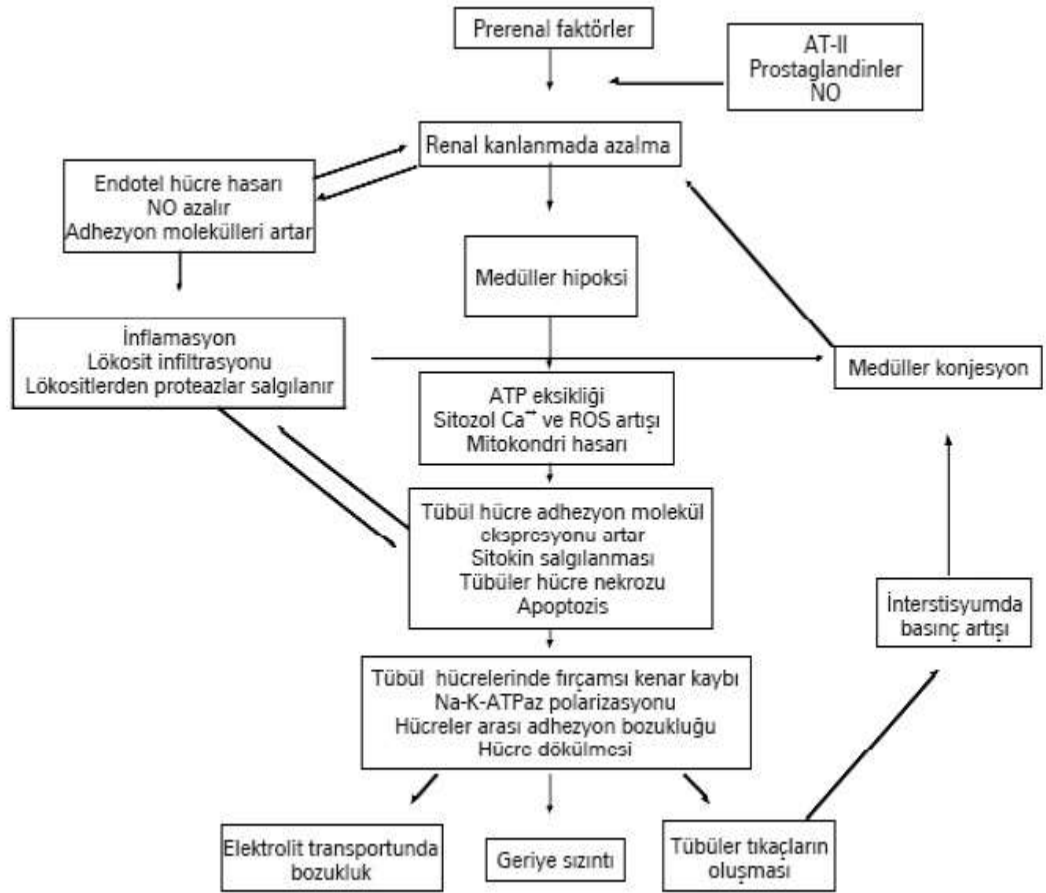
tübüler nekrozdur. Genellikle geriye dönüşümlüdür, reperfüzyonla birlikte 1-2 hafta içinde tubul fonksiyonları normale dönmektedir (15).

İskemik akut böbrek yetmezliği (ABY), hipoperfüzyonun böbrek parankimal hücrelerde ve özellikle de tübüler hücrelerde harabiyet oluşturması, böbrek hücrelerinin onarılması ve rejenerasyonunu gerektiğinden dolayı perfüzyon normale getirilirse bile olayın düzelmesinin 1-2 haftalık bir süre periyodunun gerekmesinden dolayı prerenal ABY'den farklılık göstermektedir. İskemik ABY ileri formlarında bilateral kortikal nekroza yol açmasından dolayı, geri dönüşümsüz böbrek yetmezliğine yol açabilmektedir. İskemik ABY en sık olarak majör kardiyovasküler cerrahi uygulanan, şiddetli travma, kanama, sepsis ve böbrek transplantasyon yapılan hastalarda gelişmektedir (17).

İskemik böbrek hasarında, böbrek perfüzyonun bozulması sonucu oluşan ve böbrek fonksiyonların bozulmasında temel patoloji olan tübüler hasarın yanı sıra, yeniden perfüzyon sağlandıktan sonra üretilen serbest radikaller de önemli bir yere sahiptir. Özellikle proksimal tübül hücrelerinin metabolik açıdan yoğun olmaları, akut tübüler nekroz (ATN) sırasında mitokondriyal hasar ve intrasitoplazmik kalsiyum artışı nedeniyle oksidatif moleküller fazla miktarlarda oluşur. Hücre hasarı sırasında oluşan süperoksitten yoğun miktarlarda  $H_2O_2$  oluşur. Hidrojen peroksit normalde su molekülüne çevrilebildiği halde hasarlı hücrelerde hidroksil radikallerine de dönüşebilir. Oluşan  $OH^-$  gibi SOR türevleri lipid peroksidasyonuna sebep olarak, hücre proteinlerini okside eder, plazma ve mitokondri membranını bozar ve DNA'ya hasar vererek hücre zedelenmesine sebep olur (18).

Yapılan çalışmalarda böbrek dokusu veya idrarda artmış oksidan hasar ürünlerinin saptanması ve/veya serbest oksijen radikalleri inhibitörleri verilmesi ile koruyuculuğun deneysel olarak gösterilmiş ayrıca serbest oksijen radikallerinin nefropati patogenezinde rolü olduğu gösterilmiştir (19).





**Şekil 2.** İskemik ve ATN patogenezinde rol oynayan faktörlerin şematik görünümü (5).

NO: Nitrik Oksit, AT-II: Anjiyotensin II, SOR: Serbest Oksijen Radikalleri

## 2.2. Böbreğin Yapısı ve Fonksiyonları

Böbrekler insan vücudunda retroperitoneal kavitede, paravertebral yerleşimli olup, T12-L3 vertabralar arasında uzanırlar. Sağ böbrek, karaciğer nedeni ile sola göre 1-2 cm. daha aşağıda bulunur. Sağ böbrek üstte sürrenal bez, üst ve önde karaciğer, altta ve lateral kenarda kolon ile komşudur. Sol böbrek ise üstte sürrenal bez, önde mide, dalak, pankreas, jejunum, desenden kolon ile komşudur. Lateral kenar konkav medial kenar ise konveks şekildedir. Medial kesimde renal hilus denilen ve içinde renal arter, renal ven, renal pelvis, üreter, lenfatik ve sinirlerin geçtiği bir yarık bulunur. Renal hilus böbrek içinde, 2,5 cm. derinliğindedir ve içinde renal pelvis, renal kaliks, renal damar ve sinirler ile değişik miktarlarda yağ dokusunun bulunduğu renal hilus olarak devam eder (20-22).

Her bir böbreğin kanlanması aortadan köken alan renal arterlerden sağlanır. 70 kilogramlık bir insanda her iki böbreğe giden kanın miktarı dakikada 1200ml. veya kalp debisinin %21'i kadardır. Renal arter hilustan böbreğe girdikten sonra önce interlobar daha sonra arkuat arterlere ayrılır. Arkuat arterlerden dik olarak 17 interlobuler arterler çıkar. Bu arterlerden glomerüle giden afferent arterioller köken alır. Glomerülü oluşturan kapillerler birleşerek efferent arteriollerini oluşturur. Efferent arterioller daha sonra dallanarak tubulusleri saran, böbrekteki ikinci kapiller ağ sistemi olan peritübüler kapiller ağı oluşturur. Peritübüler kapillerlerden gelen kan venöz sisteme dökülür. Oradan sırasıyla arteriel sistemle paralel olarak interlobuler ven, arkuat ven, interlobar ven ve renal veni takip eder. Renal venler ise inferior vena kavaya drene olur (20-22).

Sagittal olarak böbrek kesildiğinde dışta korteks, içte medulla olmak üzere 2 kısımdan oluşur. Medulla, medullar piramit adı verilen 10-18 adet piramidal yapıdan oluşur. Piramitlerin tabanları kortikomedüller bölgede bulunurken, tepe kısımları kaliks içine kadar uzanır. Kaliks içine açılan bu kısımlara papilla ismi verilir. Korteks böbreğin dış kısmının yanı sıra medüller piramitler arasında da yer alır ve bu kısma Bertini'nin böbrek kolonları denir (23).

Nefron böbrekte idrar oluşumunu sağlayan en küçük yapısal ve anatomik birimdir. Her bir böbrekte idrar yapabilme fonksiyonu olan yaklaşık 1 milyon nefron bulunur. Böbrek yeni nefron rejenere edemez. Dolayısıyla hastalık, renal bir hasar veya yaşlanma ile nefron sayısında kademeli bir azalma olur (21,22).

Her nefronun iki kısımdan oluşur.

a) Glomerül; sıvının kandan filtre edildiği kısım,

b) Tubulusler; filtre edilen sıvının idrara dönüştüğü proksimal ve distal tubuluslar, henle kulbu ve toplayıcı kanallardan oluşan kısımdır (21).

Glomerüller, proksimal ve distal tubulusler ve dış korteksteki nefronların Henle kulpları kortekste; toplayıcı kanallar, Henle kulpları ve vasa rectalar medullada bulunur. Nefronlar böbrek dokusunda ilerledikleri derinliğe göre, kortikal ve jukstaklomerüler olmak üzere iki tiptir. Glomerül, dallanan ve anastomozlar yapan ve epitelyal hücreler ile kaplı kapiller bir yumaktır. Bowman kapsülü denilen bir yapı içinde bulunur. Glomerülden filtre

edilen sıvı sırasıyla proksimal tubul, henle kulbu, distal tubul ve toplayıcı kanallardan geçer, renal papillaların içinden renal kalikse açılır. Oradanda renal pelvis ve üretere geçer (21,22).

Distal tubulusun başlangıcı her nefronda afferent ve efferent arterioller ile temas halindedir ve bu üç yapı jukstaglomerüler apparatus denen yapıyı oluşturur. Bu apparatusun görevi renin salgılayarak kan basıncı üzerinde etkili olmak, glomerüler filtrasyon ve renal kan akımının regülasyonunu sağlamaktır. Jukstaglomerüler apparatusun distal tubulusteki değişiklik gösteren hücrelerine makula densa ismi verilir ve distal tubulusteki sıvının bileşimine göre jukstaglomerüler apparatusun aktivitesini ayarlar (21-23).

Nefronların temel işlevi istenmeyen maddeleri plazmadan temizlemektir. Bunun için kullanılan mekanizmalar şunlardır;

a) Glomerüler Filtrasyon: Glomerüldeki kanın plazmasının bir bölümü (yaklaşık 1/5'i) glomerüler membrandan filtre edilir.

b) Tubuler Reabsorbsiyon: Filtre edilen sıvı, tubullerde ilerlerken su ve diğer gerekli maddeler reabsorbe edilir. İstenmeyen maddeler geri emilmez ve idrar oluşumuna katkıda bulunur.

c) Tubuler Sekresyon: Plazmadaki bazı maddeler tubulleri döşeyen epitel hücrelerince doğrudan tubuler sıvı içine sekrete edilir (21,22).

Böbrek kan akımının ve glomerüler filtrasyonun fizyolojik kontrolünde birçok faktör rol oynar. Afferent ve efferent arterioller de dahil olmak üzere bütün böbrek damarları özellikle sempatik sinir liflerinden zengindir. Böbrek sempatik sinirlerinin kuvvetli aktivasyonu, böbrek arteriollerini daraltabilir ve böbrek kan akımı ve glomerüler filtrasyon hızının azaltabilir. Bu savunma reaksiyonu böbrek medullasından salgılanan epinefrin ve norepinefrin aracılığı ile olur. Endotelin ise böbrek damarlarının hasar görmüş endotel hücrelerinden salınır. Glomerüler filtrasyonu azaltır ve böbrek vazokonstrüksiyonuna katkıda bulunur (21, 23).

Endotelden kaynaklanan nitrik oksit, böbrek damar direncini azaltır ve glomerüler filtrasyonu artırır. PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> ve bradikinin de damarları genişleten ve glomerüler filtrasyonu artıran diğer otakoidlerdir (21, 23).

Böbreğin temel fonksiyonları;

1) İdrar oluşturarak; artık maddelerin eliminasyonu (üre, kreatinin, ürik asit, ilaçlar, toksinler) ve su dengesinin korunması (total vücut suyunun ve plazma osmolalitesinin ayarlanması), elektrolit ve asit baz dengesinin korunması (sodyum, potasyum, klor, kalsiyum, fosfat, magnezyum)

2) Hormonlar ve benzeri maddelerin sentezi (Renin, D vitamini, eritropoetin, prostoglandinler, kinin-kallikrein, growth faktörler), peptid yapılı hormonların yıkımı ve katabolizması (insülin, glukagon, parathormon, kalsitonin, prolaktin, büyüme hormonu, vazopressin, gastrointestinal hormonlar), düşük molekül ağırlıklı proteinlerin katabolizması (haif zincirler, beta-2 mikroglobulin) glukoneogenez ve lipid metabolizması (21).

### **2.3 Turnikenin Kullanımı ve Etkileri**

Günümüzde ortopedik cerrahide sık kullanılan bir yöntem olan turnike ile ilgili tarihte bilinen ilk kayıta MS ikinci yüzyılda Romalı bir cerrahdan bahsedilmektedir. 1817 yılında bir Fransız cerrah olan Jean-Louis Petit, hemostaz için yaptığı cihazı “ turnike” olarak nitelendirdi (25). Pnömatik turnike 1904 yılında Harvey Cushing tarafından tanımlanmıştır. 1960’lı yıllardaki Klenerman’ın çalışmalarıyla Ekstremitte cerrahisinde yaygın kullanılmaya başlanmıştır (26,27).

Pnömotik turnikelerden önce cerrahi sahadaki kanamayı azaltmak amacıyla Esmarch bandajı, crepe elastik bandajı ile rhyss-davies eksanguinasyon aleti gibi araçlar kullanılmıştır. Enfeksiyon ve tümör hücrelerinin yayılma riskinin arttırması ayrıca derin ven trombozuna bağlı olarak fetal pulmoner emboli ile sonuçlama potansiyeli göz önüne alındığında bu tip araçların kullanımı azalmış pnömotik turnike kullanımı ön plana çıkmıştır.

Manşonun altındaki basıncın düzensiz dağılımına nedeniyle deri, kas, sinir ve damarlar turnikenin mekanik basıncı altında zarar görebilirler (25). Turnikenin etkilediği doku kitlesi üst ekstremiteye göre alt ekstremitede daha fazladır. Bu nedenle turnike ekstremitenin proksimal kısmına yerleştirilmelidir (28).

İdeal turnike basıncı halen tartışmalıdır. Uygulanacak basınç arteryel kan geçişini önleyecek ve hemostasisi bozmayacak en düşük değerde olmalıdır. Yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular sonucu bugüne kadar gerekenden daha büyük basınçlar kullanıldığı görülmüştür. Kullanılan turnikenin büyüklüğüne bağlı olarak minimal arteryel oklüzyon basıncı (AOP) doku hasarı en aza indirmek amacıyla turnike uygulaması öncesinde

belirlenmelidir. AOP Graham formülü kullanılarak bulunabilir. Bu formülle turnike basıncının erişkinlerde %20-40, çocuklarda ise %50 oranında azaltılabildiği gösterilmiştir. Eğer AOP formüldeki gibi tespit edilemiyorsa, kullanılan turnike basıncı sistolik kan basıncı üzerinden 75-100 mmHg olarak ayarlanması önerilir (29).

**Graham formülü:** AOP : [ ( Sistolik Basınç-Diyastolik Basınç) (ekstremitte çevresi) / 3 (manşon genişliği) ] + diyastolik basıncı

Klenerman ise Bu konuda alt ekstremitede koldan ölçülen sistolik basıncın iki katını kullanmayı önermektedir (30). Pedowitz ise hemostasisi sağlayacak minimum turnike basıncını ekstremitte boyutunu, kaf tipine, kaf genişliğine, periferik vasküler durumuna ve intraoperatif sistolik kan basınç aralığına bağlamıştır (31).

Turnike nedeniyle oluşan iskemi için güvenli süre konusu da tartışmalıdır. İskemi oluşmaması için önerilen maksimum süre 1 saattir. Fakat sağlıklı kasların hücrelerinde subletal hasara neden olabilmesine rağmen irreversible hasara sebep vermeyen 3 saat boyunca devam eden iskemilerde bildirilmiştir. 1 saati aşan iskemi dönemlerinde ara ara turnikenin deflasyonu önerilmiştir. 45-60 dakikalık iskemi sonrası 10 dakika reperfüzyon bu nedenden dolayı faydalı olabilir. 2 saatlik iskemi sonrası başlatılan reperfüzyon sonrası kas hasarının şiddetlenmesine eğilim gösterir. 60-90 dakika sonrasındaki iskemide ise aralıklı reperfüzyon dönemleri ve biyolojik mekanizmaların korunması yetersiz kalıp patofizyolojik süreçler ve inflamatuvar kaskatlar çok daha fazla etkilenir (32).

### **2.3.1 Turnike Kullanımıyla Oluşabilen Problemler ve Komplikasyonlar**

**A-Volüm Yüklenmesi:** Ekstremitedeki kanın boşaltılması sırasında periferik sirkülasyondan santral dolaşıma kanın ototransfüzyonu ile gerçekleşir (33). Turnikeye bağlı olarak gelişen iskemi-reperfüzyonun kardiyovasküler sistem üzerinde önemli etkileri vardır. Olguların %11-66'sında ortalama areteyel basınç (OAB) ağrıya sekonder olarak enflasyon sonra kademeli olarak artabilir. Genel anestezide göre rejyonel anestezide turnike ağrısına bağlı olan kardiyovasküler cevapları daha iyi tolere edilir. Deflasyon sonrası gelişen hipotansiyonun süresinde, metabolik ve laktik asidoz ile hiperkalemiye sekonder olarak özellikle alt ekstremitte cerrahisi sonrası miyokard depresyonu ve yaşlı ya da düşükün hastalarda kardiyak arrest gelişebilir (34).

**B-Pulmoner Emboli:** Turnike nedeniyle intravasküler endotelyum zarar görebilir. 60 dakikadan uzun turnikelerde derin ven tromboz (DVT) riski artar. İnflasyon süresince DVT oluşumu başlar ve deflasyon sonrası tromboz markerlerinin dolaşımında artmasına bağlı olarak devam eder. Özellikle immobilize hastalarda risk artmıştır. Postoperatif dönemde yeni oluşan kalp blokları ve kardiovasküler kollapslarda pulmoner emboli tanısı akılda tutulmalıdır. Ortopedik cerrahi boyunca pulmoner embolinin kemik medüller kanala invazyonu sonucu yağ embolisi neden olabilir. Turnikenin deflasyonu sonrasında çimento ve hava emboliside rapor edilmiştir (35).

**C-Cilt Travması:** Turnikenin yerleştirilmesindeki hatalara bağlı ciltte basınç travması ile abrasyon, ekimoz ve ödem gelişebilir (33).

**D-Metabolik - Kan gazı Değişiklikleri:** Turnike altındaki iskemik bölgede hipoksi, hiperkapni, asidoz, hiperkalemi ve laktik asidemi izlenmektedir. Bu değişiklikler hafiftir ve tolere edilebilir (36).

**E-Turnike Ağrısı:** Sık karşılaşılan bir komplikasyondur ve nedeni halen anlaşılammıştır. Şiddetli, künt, sızı tarzında olup, turnike bölgesinde veya kafın hemen distalinde görülebilir. Ekstremitede yeterli anestezi düzeyine rağmen gelişebilen ağrıdır. Turnikenin indirilmesinden sonra ekstremitenin reperfüzyonu ile bağlantılı olarak yoğun, vibratuar karakterde, karıncalanma şeklinde farklı bir ağrı da görülür. Ağrının oluşmasında sinir gövdesine olan doğrudan iskemik etkiyi veya anaerobik metabolizmanın lokal ürünlerine bağlı majör arterlerin duysal innervasyonunu etkilemesini suçlanmıştır (37).

**F-Kas Hasarlanması:** Kısa süreli turnike kullanılmasında bile iskelet kası ciddi bir şekilde etkilenebilir. Kas iskemik hasara sinirden daha yatkındır. İskemi boyunca asidoz, iyon imbalansı ve ATP tüketim kaskadı meydana gelir. Reperfüzyon boyunca progresif olarak oluşan sitokin üretimi, reaktif oksijen türleri ve hücre içine doğru hızlı kalsiyum girişi hasarı daha da fazla artabilir, nekroz ve hücrel apoptosiz ile sonuçlanan mitokondriyal disfonksiyona sebep olabilirler (38).

**G-Doku Hasarı:** Turnike uygulanan ekstremitede ödem, kompartman sendromu, post-turnike sendromu görülebilir. Turnike süresi ve basıncından bağımsız olarak turnike indirilmesini takiben ortaya çıkar. En sık ekstremitede ödem görülür. Kompartman sendromu nadir görülür (39).

**Post-turnike sendromu:** Turnike açılmasını takiben, şişmiş, katı, soluk olan ekstremitelerde aynı zamanda güçsüzlük olması ancak paralizi görülmemesi ile karakterizedir. Turnike sonrasında oluşan ödemin etiolojide rolü esastır. Genellikle 1-6 haftada normale döner (33).

**H-Sinirsel Hasar:** Literatürde geçici veya kalıcı sinir felçleri ile fonksiyonel sekel vakaları nadir bildirilmiştir ancak sinir yaralanmaları özellikle yüksek pnömatik turnike kaf basınçlarında ve uzun süreli turnike enflasyon sonra ortaya çıkabilir. Sinir hasarı riski % 0.1 ile 7.7 arasında değişmektedir. Kompresyona bağlı olarak gelişen turnike ile ilişkili nörolojik yaralanma sıklığı iskemiye bağlı olana göre daha fazladır. Paresteziden tam paraliziye kadar geniş bir spektrumda görülebilir. Turnikenin deflesyonu sonrası ısınma hissi aniden yanma hissine dönmesi reperfüzyonla ile ilgilidir. Reperfüzyon boyunca hızlı akışın sinir üstüne etkisi kaslara göre daha uzun sürer. Turnike süresinin 3 saatten az olduğu durumlarda iskemiden ziyade sinir kompresyonu suçlanmaktadır. Kompresyona bağlı hasarlarda, kaf basıncının 500 mmHg altında olduğu ve sinir iletiminin 30 dk. süre ile kesildiği durumlarda sinir hasarı histolojik olarak gösterilebilir (40).

**I- Yara İnfeksiyonu:** Uzun süreli kullanımı enfeksiyon komplikasyonları açısından riskli kabul edilir. Turnike kullanımının sistemik inflamasyona cevabı süregelen derin endotel hasarı ve nötrofil aktivasyonu ile açıklanır. Ayrıca turnike ve benzeri bandajlar da enfeksiyon kaynağı olabilirler. Turnike çıkarılmadan 10 dakika önceden yapılan antibiyoterapinin etkinliği bildirilmiştir (41).

**J-Nörolojik Etkiler:** Deflesyon ile birlikte sistemik kan basıncındaki düşme ve simultane karbondioksit artışı intrakranial basınçta tehlikeli artışlara neden olabilir. Beyin hasarı mevcut olan hastalarda bu değişiklikler serebral perfüzyon basıncında düşüşler ile kendini gösterir (42).

**K-Oksidatif Stress Üzerine Etkiler:** Turnike açıldıktan sonra, kas ve sinir dokusunda İskemi Reperfüzyon hasarı olabilmekte, hipoksik hücresel değişiklikler, anaerobik glikolizis, nötrofil aktivasyonu ve hücre membran makro moleküllerinin peroksidasyonu ile reaktif oksijen radikalleri oluşabilmektedir (25).

### 2.3.2 Turnike Uygulamasının Kontraendike Olduğu Durumlar:

- Periferik vasküler hastalıklar (Reynoud hastalığı)
- Ciddi yaralanmış / travmatize ekstremiteler
- Periferik nöropati veya santral sinir sistemi bozukluğu
- İlgili ekstremitelerde ciddi enfeksiyon, DVT, artroz/aktif artrit, cilt problemleri
- Arteriovenöz fistül
- Yeterli ekipmanın bulunmaması
- Orak hücreli anemi (33).

### 2.4. Serbest Radikaller ve Oksidanlar

Serbest radikaller yapılarında eşleşmemiş elektron içeren atom veya bileşikler olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikaller yapılarında tek sayıda elektron içeren, açık elektron kabuğu konfigürasyonuna sahip atom veya moleküllerdir. Serbest radikaller, hücre membranları ve nükleik asitlerin yapısında yer alan anahtar moleküller olup, fazlasıyla reaktif, kısa ömürlü ve stabil olmayan moleküllerdir. Moleküler oksijenin indirgenmesi ile değişik oksijen serbest radikalleri üretilebilirler. Reperfüzyon başlamasıyla birlikte ortamda oksijen miktarı arttığından serbest oksijen radikalleri oluşumu artmaktadır (43).

Serbest radikalın meydana gelmesi 3 şekilde gerçekleşmektedir:

1. Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu her bir parçada ortak elektronlardan biri kalarak meydana gelirler.

2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşurlar. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomlardan birisinde kalmaktadır.

3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.

Her oksidasyon bir redüksiyonla birlikte dir. Böylece kütle kuralına göre oksidatif streste her iki reaksiyon da yer alır. Serbest radikallerin aktiviteleri farklılık gösterir. Serbest radikalın etkinliği substrata ve bulunduğu fiziksel şartlara göre farklılık gösterir. Aynı serbest



radikal, aynı maddeyi oksidant veya redüktant olarak kullanabilir. Reaksiyonun oluşma hızı; ortamın ısısına, pH sına ve ortamdaki katalizörlere bağlıdır (43).

#### Serbest Radikal Kaynakları

##### 1. Biyolojik kaynaklar:

a. Aktive olmuş fagositler

b. Antineoplastikler (Nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin, adriamisin) ve ekzojen kimyasalların enzimatik yıkımı,

c. Radyant enerjinin Emilimi (Ultraviyole, X ışını),

d. Alkol ve uyuşturucular,

e. Çevresel etkenler (Hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, pestisid, sigara dumanı, solventler, anestezipler ve aromatik hidrokarbonlar),

f. Stres (Streste katekolaminler artar. Artan katekolaminlerin oksidasyonu sonucu serbest radikaller meydana gelir) .

##### 2. Hücresel kaynaklar:

a. Normal metabolik olaylarda görülen oksidasyon-redüksiyon (redoks) reaksiyonları sırasında (Askorbat, tioller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavin, tetrahidropterin ve antibiyotikler),

b. Enzim ve proteinler (Ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz ve hemoglobin gibi),

c. Mitokondrial elektron taşıma zinciri,

d. Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron taşıma sistemleri (sitokrom p450, sitokrom b5 redüktaz),

e. Peroksidazlar (Oksidazlar ve flavoproteinler),

f. Plazma membranı (Lipooksijenaz, prostaglandin sentetaz, fagositlerde dihidro nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz ve lipid peroksidasyonu),

g. Oksidatif stres yapıcı durumlar (iskemi, travma ve intoksikasyon).

Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar (43).

#### **2.4.1. Serbest Oksijen Radikalleri**

Biyolojik sistemlerde elektron transferinin yer aldığı indirgenme yükseltgenme reaksiyonlarında serbest radikaller oluşmaktadır. Oluşan bu radikaller endojen mekanizmalarla etkisiz hale getirilirler. İskemi sonrası reperfüzyon safhasında oluşan serbest oksijen radikal düzeyi vücut savunma sistemlerini aştığından lokal ve sistemik etki oluşmasına neden olur (44).

Aerobik canlılarda serbest radikaller için en önemli kaynağın moleküler oksijen olduğu kabul edilmektedir. Normal metabolizma sırasında oksijenin %98'i H<sub>2</sub>O'ya indirgenmektedir. Geriye kalan %2'lik kısım süperoksit ve hidroksil radikaline dönüşür. En önemli serbest oksijen radikalleri süperoksit (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) ve hidroksil (OH) anyonlarıdır (44).

Zayıf bir oksidan olan süperoksit radikalinin önemli hücre hasarlarına yol açması mümkün görülmemektedir. Fakat süperoksit radikalleri oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir (44). Bu reaksiyonların en önemlilerinden biri Haber-Weiss reaksiyonudur. Bu reaksiyonda O<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> demir varlığında etkileşerek oldukça reaktif olan HO<sup>-</sup> radikallerini oluşturmaktadırlar.

Üretilen bu OH<sup>-</sup> radikalleri oldukça reaktif olup DNA gibi yapılarla reaksiyonlara girerek önemli hasarlara yol açabilmektedir (44).

Superoksit radikalleri kısa bir yarı ömre sahip olup dismutasyon reaksiyonu ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve oksijen üretirler. Dismutasyon reaksiyonu spontan olarak meydana gelmekte ve reaksiyon SOD enzimi ile katalizlenmektedir.

Hidroksil radikali, biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikaldir. Dokular radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından absorblanır ve radyasyon oksijen-hidrojen arasında kovalent bağa neden olur. Sonuçta iki radikal meydana gelir. Bu radikallerden biri hidrojen (H<sup>-</sup>) ve diğeri ise hidroksil radikalidir (OH<sup>-</sup>) (44).

### 2.4.2.Nitrik Oksit (NO)

Nitrik oksit L-Arginin'in guanidium grubundan, Nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi aracılığı ile endotelde sentezlenen diatomik serbest radikaldır. Üç farklı NOS enzimi vardır. Endotelial, nöronal ve üçüncüsüde normal koşullarda üretilmeyen ancak enflamasyon veya enfeksiyon durumlarında sitokinler veya endotoksinler tarafından indüklenebilen iNOS'dur. Ayrıca iNOS NO üretimi  $Ca^{+2}$  bağımsızdır. Nitrik oksit, iskemi reperfüzyon hasarına karşı oldukça iyi bilinen koruyucu ve mediatördür (9).

Nitrik oksit vasküler tonusun fizyolojik regülasyonu, platelet agregasyonunun inhibisyonu, endotele lökosit adezyonunun engellenmesi, oksijen derive serbest radikallerin temizlenmesi, normal vasküler permeabilitenin idamesi, düz kas proliferasyonunun engellenmesi, immun defansın güçlendirilmesi, endotel hücrelerinin rejenerasyonu gibi birçok yaşamsal olayda etken bir maddedir. Aynı zamanda iskemik dokularda süperoksit dismutaz aktivitesini etkileyerek hidrojen peroksit birikimini azaltır.

İskemi reperfüzyon hasarına bağlı gelişen endotel hücre disfonksiyonunda, nitrik oksit sentezinde azalma oluşarak hücre hasarı derinleşir. Endotel disfonksiyonuna bağlı nitrik oksit azalma mekanizması hala tam olarak gösterilememiştir (9).

### 2.4.3.Serbest Radikallerin Biyolojik Hedefleri

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

- a) Nükleotid yapılı koenzimlerin yıkımı,
- b) DNA' nın tahrip olması,
- c) Steroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi,
- d) Lipid peroksidasyonu zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi,
- e) Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler,
- f) Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması,
- g) Protein ve lipitlerle kovalan bağlantılar yapması,
- h) Mukopolisakkaritlerin yıkımı,

i) Proteinlerin tahrip olması ve protein döngüsünün artması,

j) Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/disülfid oranının değişmesi,

k) Kollojen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterofibrotik değişikliklerin oluşmasıdır (9).

Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bunun nedeni doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallere reaktivitesinin yüksek olmasıdır. Serbest radikal harabiyetinden proteinlerin ne derece etkileneceği aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Protein harabiyetinin boyutları, proteinin hücresel lokalizasyonuna ve radikalın toksisite gücüne göre değişebilir (45).

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, peroksitler ve okzoaldehitler özellikle monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu meydana gelir. Antimitotik etkisini bir okzoaldehit olan glikozil, DNA ve RNA arasında çapraz bağ oluşturma özelliğinden dolayı gösterir. Bununla birlikte süperoksit ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin invitro olarak hiyalüronik asidi parçaladıkları gösterilmiştir (45).

İyonlar, serbest radikaller ve aktif moleküller, radyasyonla hücre içinde enerji depolanması sonucu meydana gelirler. İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon ve ölüme yol açarlar (45).

Lipid peroksil radikali, lipid radikalının moleküler oksijen ile etkileşmesi sonucu meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksidlerine dönüşürlerken, membran yapısındaki diğer poliansature yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarlar. Lipid peroksitlerinin yıkımından oluşan ürünlerden biri MDA'dır. Lipid peroksidasyonu membran yapısına direkt olarak ve reaktif aldehydler üreterek diğer hücre bileşenlerine indirek olarak zarar verir. Mikroviskozitesi ve membran permeabilitesi ciddi şekilde etkilenir. Membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna peroksidasyonla oluşan MDA sebep olur. Bu da iyon transportu, enzim aktivitesi, deformasyon ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir (45).

Artan serbest radikallerin plazma ve organel membranları üzerinde başlattıkları lipid peroksidasyonu reperfüzyon hasarının en önemli nedenidir. Lipid peroksidasyonu yeni serbest

radikallerin oluşumuna neden olur. Ortamda doymamış yağ asitleri, oksijen ve metal katalizörler bulunduğu sürece logaritmik olarak lipid peroksidasyonu artar. Reperfüzyon dönemi bu sebeble, lipid peroksidasyonu için gerekli koşulları sağlanması bakımından çok uygundur. Lipid radikalleri veya MDA gibi peroksidasyon ürünleri aracılığı ile lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda yaygın hale geldiği zaman hücresel yapı ve fonksiyon hasarları ortaya çıkmaktadır. Yapısal hasarın derecesine göre, plazma membranında akışkanlığın azalması, membran geçirgenliğinin değişmesi, membran potansiyeli azalması, membrana bağlı enzimlerin aktivitesinde azalma gözlenir. Lizozomal ve mitokondrial membranları ilgilendiren ileri derecede lipid peroksidasyonu ile organel içeriğinin hücre içine salınması sonucunda proteoliz hızlanır ve doku hasarının derecesi artar. Membran geçirgenliğinin bozulması ile protein sentezi için çok önemli olan potasyum ve magnezyum iyonlarının konsantrasyonları değişir ve buna bağlı olarak protein sentezinde inhibisyon gerçekleşir (45).

#### **2.4.4 Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları**

Organizmada oksidan radikallerin zararlı etkilerine karşı koruyucu etkisi olan hücre içi enzimatik savunma sistemleri, antioksidan savunma sistemleri olarak adlandırılır (46).

##### **2.4.4.1. Antioksidan Etki Tipleri**

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

1. Toplayıcı etki (Scavenging etki): Serbest oksijen radikallerini tutma ya da çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki” denilmektedir. Antioksidan enzimler, küçük antioksidan moleküller bu tip bir etki göstermektedirler (46).

2. Bastırıcı etki (Quencher etki): Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ya da inaktif biçime dönüştüren etki “bastırıcı etki” olarak adlandırılmaktadır. Vitaminler, bu tarz bir etkiye sahiptirler (43).

3. Zincir kırıcı (Chain-breaking etki): Serbest oksijen radikallerine bağlanarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye “zincir kırıcı etki” denir (46).

4. Onarıcı etki (Repair etki): Onarıcı etki üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Oksidatif hasar görmüş DNA molekülünü tamir eden enzimler bu guruba örnek olarak verilebilir (46).

#### 2.4.4.2. Antioksidan Sistemler

Vücutta reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları engellemek için birçok savunma mekanizmaları bulunmaktadır (46).

Serbest radikalleri metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini arttıran bu maddelere antioksidan maddeler denilmektedir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ya da reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedirler. Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır (47).

Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar, SOD, GPx, katalaz, glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit,  $\alpha$ -tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (46).

Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antiinflamatuvar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (46).

Antioksidanlar ayrıca primer, sekonder ve tersiyer olarak da sınıflandırılmaktadır. Yeni serbest radikal formasyonunu önleyen antioksidanlar primer antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Örnek olarak SOD, GPx, metal bağlayan proteinler, ferritin, seruloplazmin, demir, hemopeksin, haptoglobulin gösterilebilir.

Bazıları ise metal iyonları ile reaksiyona girebilecek olan peroksitleri yok ederek serbest radikallerin oluşumunu önlemektedirler (47). Sekonder antioksidanlar, zincir kırıcı reaksiyon ile serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Lipid peroksidasyon zincirini kıran bir antioksidan olan  $\alpha$ -tokoferol hücre zarında bulunmaktadır. Askorbik asit suda erimekte ve radikal toplayıcı olarak rol almakta, E vitamininin etkisini arttırmaktadır. Ürik asit ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltmaktadır. Tersiyer antioksidanlar,

serbest radikaller tarafından hasar gören biyomolekülleri onarırlar. DNA'yı onaran enzimleri de bu grupta yer almaktadırlar (43).

#### **2.4.4.3. Enzimatik Antioksidanlar**

##### **A. Süperoksit Dismutaz (SOD)**

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerinin kullanan ve süperoksiti hidrojen perokside çeviren bir metalloenzimdir. Bu reaksiyon "oksidatif strese karşı ilk savunma" olarak da adlandırılmaktadır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır (47).

##### **B.Katalaz**

Katalaz peroksisomlarda bulunan bir enzimdir. Hidrojen peroksidi su ve oksijene ayırtmaktadır. Katalaz yapısında protoporfirin-IX, Fe (Hem) grubu içerir. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranda yüksek miktarda bulunmaktadır. Katalaz hücreyi kendi respiratuar patlamasına karşı koruyucu olarak hizmet etmektedir (48).

##### **C. Glutasyon Peroksidaz (GPx)**

GPx, pek çok hücrede sitozollerde bulunan bir enzimdir. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Ancak kapasitesi sınırlıdır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementinin kullanır (48).

GPx fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GPx oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (48).

##### **D.Glutasyon-S-Transferazlar (GST)**

Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev almaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksidlere karşı glutasyon-S-transferazlar "Selenyum" bağımsız aktivite göstermektedirler (48) .

### **E.Glutasyon Redüktaz (GR)**

Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğler lipit peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutasyon, okside glutatyona dönüşmektedir. Oksidasyona uğramış bu yapıyı tekrar kullanmak için redükte glutatyona dönüştüren enzim glutasyon redüktazdır (48, 49).

### **F. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz**

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz süperoksit radikalini suya çevirerek etki göstermektedir (49).

## **2.5. Total Antioksidan Seviye (TAS)**

Normal şartlarda organizma, endojen ve/veya eksojen nedenlerle meydana gelen serbest radikaller ve bu radikallere bağılı olarak gelişen oksidatif stres ile mücadele eden karmaşık bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı antioksidan savunma sistemlerinin çalışarak serbest radikallerin temizlenmesinde kan çok önemlidir. Antioksidanlar kan ile vücudun tamamına taşınır ve dağıtılır (50). Total antioksidan kapasitenin büyük bir kısmı plazmada bulunan antioksidan moleküllerle oluşturulur. Serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin gibi antioksidanların yanında yanında serbest radikalleri kapan zincir kırıcı antioksidanlar da plazmada bulunmaktadır. Albümin, ürik asit ve askorbik asit gibi antioksidanlar ise plazmadaki total antioksidan seviyenin % 85'inden fazlasını meydana getirir. Çünkü bu antioksidanlar bilirubin,  $\alpha$ -tokoferol, flavinoidler, indirgenmiş glutasyon ve  $\beta$ -karoten gibi antioksidanlara oranla plazmada daha yüksek seviyelerde bulunur. Antioksidanlar plazmada kendi aralarında da etkileşim içindedirler. Bu etkileşimler sayesinde antioksidanlar tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla antioksidan etki gösterebilmektedir. Glutasyonun askorbatı, askorbatın da  $\alpha$ -tokoferolü yeniden aktifleştirmesi bu sinerjistik etkiye örnek olarak gösterilebilir. Bundan dolayıdır ki total antioksidan durumun belirlenmesi antioksidanların ayrı ayrı ölçülerek belirlenmesinden çok daha değerlidir (51,52).



## 2.6. Total Oksidatif Stres (TOS)

Vücudumuzda mevcut oksidan ve antioksidan dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelen patolojik durum Oksidatif stres olarak adlandırılır. Oksidatif stresin toplam değeri Total Oksidatif Stres (TOS) olarak ifade edilir. Bu durum, aşırı miktarda reaktif oksijen radikali ve/veya nitrojen radikallerinin oluşumu veya antioksidan tampon sisteminin yersizliği sonucu ortaya çıkar. Reaktif oksijen ve nitrojen radikallerinin seviyelerindeki artış ise hücrelere toksik etki yapar ve hücrenin lipid, protein ve DNA benzeri moleküllerine zarar verir. Bu gibi durumlarda damar endoteli daha az oranda etkilenir. (51,52).

## 2.7. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)

Total oksidanların seviyelerinin, total antioksidanların seviyelerine bölünmesiyle elde edilen oransal bir indekstir ve OSI değerinin yüksek olması oksidatif stresin arttığı durumlarda ortaya çıkar (51-54).

$$\text{OSI} = \frac{(\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.})}{(\text{TAS, } \mu\text{mol trolox Equiv. / L.}) \times 10}$$

## 2.8. Thymoquinone

Nigella (Nigella sativa L.), Ranunculaceae familyasına mensup ve çoğunlukla Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde yetişen yıllık otsu bir bitkidir. Halk arasında bilinen adıyla çörekotu, Nigella sativa türü bitkilerin kapsül içerisinde oluşan tohumudur. Özellikle Doğu Akdeniz ülkelerinde tohumları için yetiştirilir. Çiçekleri narin ve genellikle beyaz veya soluk koyu mavi 5-10 yapraklıdır. Meyvesi her biri çok sayıda tohum içeren 3-7 birleşik folikülden oluşan büyük ve şişirilmiş bir kapsül şeklindedir (55,56).

Nigella sativa tohumları yağ ve protein açısından iyi bir kaynaktır. Tohumların analizi sonucunda % 20.85 protein,% 38.20 yağ,% 4.64 su, % 7.94 lif ve % 31.94 karbonhidrat içerdiği gösterilmiştir. Kurşun, kadmiyum ve arsenik izine rastlanılmamıştır. Potasyum, fosfor, sodium ve demir baskın elementler olarak bulunurken çinko, kalsiyum, magnezyum, manganez ve bakır daha düşük oranlarda tesbit edilmiştir (57).

Tohumlar potansiyel olarak yağ asitlerinin yaklaşık %84'ü oranında linoleic ve oleic asitten zengin doymamış yağ asitleri içerirken total protein içeriğinin yaklaşık %30'unu oluşturan esansiyel aminoasitleri içermesi nedeniyle önemli bir besin kaynağıdır(57,58).

Tohumların yağ içerikleri aynı zamanda önemli miktarda steroller de içerir. Tohum yağının polifenoller (1,744 µg / g) ve tokoferoller (toplam α-,β- ve γ-izomerlerinin 340 µg / g'ı) açısından zengin olduğu bulunmuştur (58). Nigella sativa tohumları %36-38 oranında sabit(fixed) yağlar, proteinler, alkaloidler, saponinler ve %0.4-%2.5 oranında esansiyel yağ içerir(3). Sabit yağlar ağırlıklı olarak linoleik asit (C18: 2), oleik asit (C18: 1) ve palmitik asit (C16: 0) olarak adlandırılan yağ asitlerinden oluşur (57,59).

Nigella sativa tohum yağları ve ekstralarında farmakolojik olarak aktif olan thymoquinone, dithymoquinone, thymohydroquinone ve thymol ölçümlerinde iyi kalite kontrol yöntemleri kullanılmıştır (60). Diğer aktif bileşenler ise indazol çekirdek içeren nigellidine ve bronşial astma tedavisinde kullanılan, uçucu yağ fraksiyonundan izole edilen nigellonedir (61). Aynı zamanda Nigella sativada üç flavinoid ve triterpen saponin tesbit edilmiştir (60,62).

Tohumlar doğal aromatik yapıları nedeniyle İtalya, Almanya, Güney Fransa ve Asya'da yemeklerde baharat olarak kullanılmaktadır. Halk hekimliğinde ise Mısır halkı tarafından diüretik, gaz giderici olarak, astma, solunum sıkıntısı ve öksürük tedavisinde kullanılmıştır (61,62).

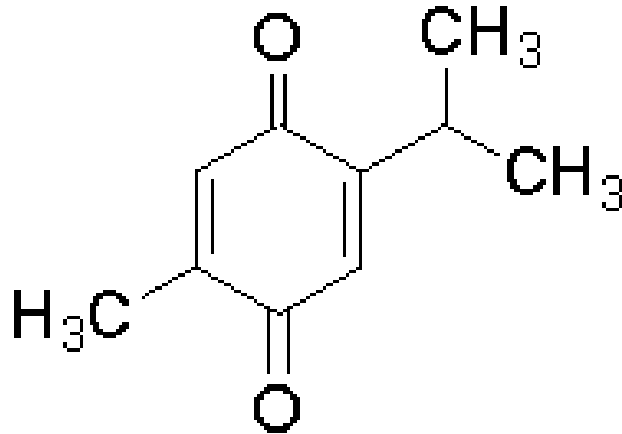
Thymoquinone, Nigella Sativanın farmakolojik olarak bilinen en aktif içeriğidir (63).

Nigella Sativa'nın uçucu yağının temel biyoaktif bileşeni olan thymoquinone (C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>; 2-izopropil-5-metil-1,4-benzokinon (molekül ağırlığı 164.2) uzun yıllar antioksidan, anti-inflamatuar ve antineoplastik ilaç olarak kullanılmaktadır (63). Yapılan çalışmalarda thymoquinone pek çok kanser türünde hücre çoğalmasını durdurucu etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Thymoquinone etkili olduğu kanser türleri; göğüs adenokarsinoması,

over adenokarsinoması (64), kolorektal kanser (65), insan pankreatik adenokarsinomu, rahim sarkoması (66), neoplastik keratinosit, insan osteosarkoması (67), fibrosarkoma, akciğer sarkoması olarak sıralanabilir. Ayrıca thymoquinone, androjen reseptörü ve transkripsiyon faktörü E2F-1'i hedefleyerek hormon-refraktör (cevap vermeyen) prostat kanserini inhibe ettiği bildirilmiştir (68).

Nigella sativa'nın anti-diyabetik, anti-oksidan, anti-inflamatuar, anti-histaminik, anti-mikrobiyal, anti-tümör, hematolojik ve immünomodülatör etkileri çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir.

Thymoquinone'un farklı mekanizmalarla anti-oksidan etkileri olduğu bildirilmiştir. Süperoksit radikal anyonu ve hidroksil radikalleri de dahil olmak üzere çeşitli oksijen türleri üzerinde radikal temizleyici etkisi olduğu gösterilmiştir (69). Yapılan deneysel çalışmada demir bağımlı mikrozomal lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (70). Hücrel glutasyonu uyarak oksidatif stresi azaltmasında diğer bir anti-oksidan özelliğidir (71).



Şekil 3. Thymoquinone'nin kimyasal yapısı

**Tablo 1.** Thymoquinone'in farmakolojik özelliklerinin bildirildiği çalışmaların derlemesi (72)

<b>Özellik</b>	<b>Bulgular</b>
<b>Anti-Oksidan</b>	-Thymoquinone invitro demir bağımlı mikrozomal lipid peroksidasyonu inhibe etmiştir -Thymoquinone ile sitümüle edilmiş lokositlerin SOR'nin yıkıcı etkilerine karşı korunduğu görülmüştür
<b>Anti-İnflamatuar</b>	-Thymoquinone rat peritoneal lökositlerinde COX ve Lipooksijenaj yollarını inhibe etmiştir -Thymoquinone alerjik ensefalomyelit, artrit ve kolit modellerinde anti-inflamatuar etki göstermiştir.
<b>Anti-Histaminik</b>	- Thymoquinone kobaylardan izole edilmiş trakeal ve ileu düz kasında histamin ve seratoninin etkilerini kaldırdı
<b>Analjezik</b>	-Thymoquinone 4 farklı analjezi modelinde kuvvetli anti-nosiseptif etki göstermiştir
<b>Anti-hipertansif</b>	-Ratlarda intravenöz Thymoquinone verilmesi doza bağımlı olarak kan basıncını ve kalp atım hızını düşürmüştür
<b>Anti-Karsinojenik</b>	-Nigella Sativa tohumları veya Thymoquinone'i de içeren ürünleri benzopirenle indüklenmiş mide tümörlerinden koruduğu ve standart antineoplastik ilaçların sitotoksik etkilerini azalttığı gösterilmiştir.
<b>Anti-Mutajenik</b>	-Şistozoma ile enfekte edilmiş fare dalak ve kemik iliği hücrelerinde kromozomal sapmalardan koruduğu gösterilmiştir

(COX : Siklooksijenaz SOR : Serbest Oksijen Radikalleri)

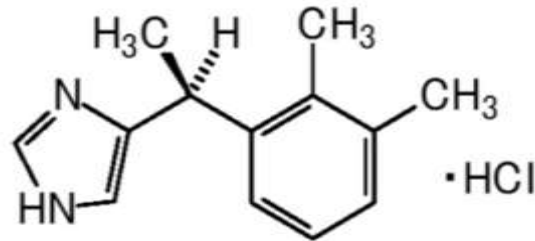
## 2.9. Deksmetomidin

Deksmetomidin lipofilik yeni bir  $\alpha$ -metilol derivesidir. Farmakolojik olarak geniş spektruma sahip, güçlü ve ileri derecede selektif  $\alpha_2$ -adrenoseptör agonistidir. Anesteziye premedikasyonda, ko-indüksiyonda, rejyonel anesteziye ve yoğun bakımda koöperatif sedasyon amacıyla kullanılmakta ayrıca anksiyolizis ve solunum depresyonu olmadan analjezi sağlamaktadır (73).

Bir imidazol bileşigi olan deksmedetomidin, medetomidinin farmakolojik olarak aktif dekstroizomeridir ve ileri derecede selektif, güçlü  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonistidir. Etki mekanizması klonidin de dahil olmak üzere diğer sedatif ajanlardan farklıdır. Beyin ve spinal korddaki reseptörlerin aktivasyonu sinirsel ateşlemeyi inhibe ederek hipotansiyon, bradikardi, sedasyon ve analjeziye neden olur. Diğer alanlardaki reseptörlerin aktivasyonu ise tükürük salgılamında azalma, sekresyonlarda azalma ve gastrointestinal sistemde barsak motilitesinde azalma, vasküler ve diğer düz kaslarda kasılma; renin salgılamının inhibisyonu, glomerüler filtrasyonda ve böbreklerden sodyum ve su salgılamında artma, intraoküler basınçta azalma ve pankreastan insulin salgılamında azalmaya sebep olur (73,74).

Genel olarak presinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörün aktivasyonu norepinefrin salgılamını inhibe eder, ağrı sinyallerinin yayılımını durdurur. Santral sinir sistemindeki postsinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörün aktivasyonu ise sempatik aktivasyonu inhibe ederek kan basıncını ve kalp hızını düşürür. Deksmedetomidin bu etkileri kombine ederek analjezi, sedasyon ve anksiyolize sebep olur (74).

Faz III sedasyon çalışmaları sonucu deksmedetomidinin analjezik özelliklere sahip bir alfa-2 agonist sedatif olduğunu göstermiştir. Deksmedetomidin intravenöz infüzyonla uygulandığında solunum depresyonu olduğuna dair kanıt yoktur. Buna ek olarak klinik çalışmalar deksmedetomidin sedasyonunun sıklıkla hasta uyandırılabilirliği birlikte olduğunu göstermiş; bu da hastaların uyarıldığında kolayca yanıt verebildiği anlamına gelmektedir. Deksmedetomidin kullanımı hafif ve tahmin edilebilir hemodinamik değişikliklere eşlik eder (74).



**Şekil 4.** Deksmedetomidin kimyasal yapısı

Deksmedetomidin alfa-1 adreno reseptörlere kıyasla, spesifik ve selektif olarak 1600:1 oranında alfa-2 adreno reseptörler üzerinde etki yapmaktadır. Deksmetomidin farmakokinetiği cinsiyet ve yaşa bağımlı olarak değişiklik göstermez (74).

Deksmedetomidine prelinik olarak potent, nonselektif  $\alpha_2$ -adreno reseptör agonisti ilaç olarak tanımlanmıştır. Klonidinin parsiyel agonistik etkilerine rağmen deksmedetomidine tam agonistik aktiviteye sahiptir (75).

$\alpha_2$ -agonistlerinin kardiyovasküler sistem üzerine temel etkileri bradikardi, sistemik vasküler rezistansta azalma ve dolaylı olarak miyokardın kontraktilesi, kardiyak output ve sistemik kan basıncında düşmedir (75).

Sempatik sinir sistemi aktivasyonu ile birlikte presinaptik sinir sonlanmalarından norepinefrin ve adrenal medulladan da epinefrin salınımını tetiklenmektedir. Katekolamin artışı taşikardi ve kan basıncı artışıyla giden bir hiperdinamik durum yaratır. Deksmetomidinin sempatotolitik etkisi ile doza bağımlı olarak plazma norepinefrin konsantrasyonunda düşme ve bunun sonucunda yine doza bağımlı olarak kalp hızı ve kan basıncında azalma yapar. İnsanlarda deksmedetomidinin bolus dozunun hemodinamik etkileri bifazik cevap şeklinde ortaya çıkmaktadır. Deksmetomidinin 2 $\mu$ g/kg iv bolus enjeksiyonundan 5 dakika sonra, bazal değerlere göre başlangıçta kan basıncında %22 oranında bir artış, kalp hızında ise %27 oranında bir azalma meydana gelmektedir. Deksmetomidin hızlı İ.V verilmesi kan basıncında geçici bir artış oluşturur. Kan basıncında başlangıçta görülen bu artış muhtemelen deksmedetomidinin periferik  $\alpha_2$ -reseptörler üzerindeki etkisine bağlıdır. Kalp hızı 15 dakika içerisinde normal değerlere dönmektedir ve kan basınçları da 1 saat içerisinde bazal değerlerin %15 kadar altına inmektedir. Aynı dozun intramusküler enjeksiyonunda kan basıncında başlangıçtaki artış görülmemektedir ve hem kalp hızı hem de kan basınçları bazal değerlerin %10 sınırları içerisinde seyretmektedir (76).

Deksmedetomidin plazma norepinefrin konsantrasyonunu doza bağımlı olarak azaltır ve doza bağımlı olarak kalp hızı ve kan basıncını azaltır. Bununla birlikte deksmedetomidin hızlı i.v verilmesi kan basıncında geçici bir artış oluşturur. Bu etki muhtemelen vasküler düz kasta bulunan periferik  $\alpha_2$ -adreno reseptörlerin aktivasyonunun tetiklediği vazokonstriksiyona bağlı olabilir. Kan basıncındaki bu artış kalp hızında %25 oranında azalması ile birlikte (75).

Deksmedetomidin, yoğun bakımda ideal bir sedatif ajandan beklenen iyi bir sedasyon sağlama ve kolay uyandırılabilirlik, analjezik etki, anksiyolizis, birikici etkisinin olmaması,

solunum depresyonu yapmaması, hemodinamik stabilite sağlaması, bulantı, kusma ya da konstipasyon yapmaması kriterlerine teorik olarak tamamen uymaktadır. Deksmetomidin faz 3 çalışmalarda klinik olarak etkili bir sedasyon sağlamıştır. Deksmetomidinin hipnotik ve sedatif etkileri predominant noradrenerjik nükleus ve uyanıklığın önemli düzenleyicisi olan locus coeruleus'a olan etkisine bağlanmaktadır (73).

Deksmetomidinin tüm etkileri, sedasyon ve sempatolitik etkileri bir  $\alpha_2$  adrenerjik antagonisti olan "atipamezol" uygulanarak kolaylıkla geri çevrilebilmektedir (77)

$\alpha_2$  adrenerjik agonistlerin opioid analjezisini potansiyalize ettikleri gösterilmiştir. Çok selektif  $\alpha_2$  agonist olan deksmedetomidinin analjezik etkisi çoğu çalışmada araştırılmıştır. Çalışmalarda spinotalamik dorsal kök nöronlarında deksmedetomidin ve medetomidinin sistemik ve intratekal uygulanması sonucu oluşan nosiseptif cevapların inhibisyonunun elektrofizyolojik olarak gösterilmesi ile kuvvetlendirilmiştir.  $\alpha_2$  agonistler morfinin analjezik etkisini potansiyalize ederler ve cerrahi sonrası analjezik kullanımını %10-15 oranında azaltırlar. Bu etki sempatik sinir uçlarında ve spinal kordda adreseptörlerin stimülasyonu sonucu olabilir. Deksmetomidinin analjezik koruyucu etkisi preemtif analjezik etki veya rezidüel aditif etki ile açıklanabilir. Birçok çalışmada deksmedetomidin ve medetomidinin doza bağımlı analjezi oluşturdukları gösterilmiştir (73).

Deksmetomidinin ilginç bir özelliği de benzodiyazepin veya opiyoidler gibi diğer sedatif ajanlarla karşılaştırıldığında minimal solunum depresyonu oluşturmasıdır. (71).

Deksmetomidinin anestezi ihtiyacını azalttığına dair birçok yayın mevcuttur. Cerrahi sırasında deksmedetomidin infüzyonun plasebo ile karşılaştırıldığı çift kör bir çalışmada, deksmedetomidinin izofluran ihtiyacını azalttığı gösterilmiştir (78). Deksmetomidin anestezi indüksiyonunda barbiturat ihtiyacını azaltmıştır (77). Alfa 2-adrenerjik agonistler anestezi için değerli olan birçok özellikler taşımaktadırlar. Ancak insanlarda anestezi konsantrasyonlarda görülen kardiyovasküler etkileri (hipotansiyon ve bradikardi) onların primer bir anestezi ajan olarak kullanılmasını önlemektedir. Bu yüzden onların anesteziye rolü anestezi ilaçlara bir adjuvan olmakla sınırlanmaktadır (75).

Deksmetomidin gönüllülerde yapılan bir çalışmada transkranyal doppler ile serebral kan akımını doza bağlı olarak azalttığı görülmüştür. Bu özelliği ile iskemik yaralanmalardan koruyucu olabilirler. Deneysel modellerde nöroprotektif etkileri rapor

edilmesine rağmen geçici global iskemi atağı sonrasında eksitatör aminoasit artışı önlenmemiştir (74).

Deksmedetomidin sıklıkla salivasyonu azaltır. Doza bağı olarak büyüme hormonu sekresyonunu, plazma renin aktivasyonunu ve prolaktin seviyesini etkilemeksizin arttırmıştır. Teorik olarak  $\alpha$ 2-agonistler plateletlerin agregasyonunu artırır. Klinikte buna ilişkin delillere rastlanmamıştır (74).

Deksmedetomidinin teratojenik etkileri henüz çalışılmamıştır, fakat ilaç plasentayı geçmektedir. Deksmedetomidinin yan etkileri hipotansiyon, hipertansiyon, bulantı, bradikardi, atriyal fibrilasyon ve hipoksiyi içermektedir. Doz aşımı birinci dereceden veya ikinci dereceden atrioventriküler bloğa neden olabilir. Deksmedetomidinle birlikte görülen yan etkiler ilacın yükleme dozundan sonra ortaya çıkmaktadır. Yükleme dozunu vermeyerek veya azaltarak bu etkiler ortadan kaldırılabilir. Deksmedetomidinin uzun süreli kullanımı ile ilgili çalışma yapılmamıştır fakat klonidinde görüldüğü gibi adaptasyona bağı değişiklikler veya çekilme sendromu deksmedetomidinde de beklenebilir (74).



### **3. MATERYAL VE METOD**

Çalışmamız Yerel Etik Kurulu onayı (Harran Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'nun 30.04.2012 tarih B.30.2.HRÜ.0.05.07.00/270 sayılı onay kararı alındıktan sonra, Çevre ve Orman Bakanlığı tarafından Resmi Gazete'nin 6 Temmuz 2006 tarih ve 2622 sayılı nüshasında yayımlanan Hayvan Deneyleleri Etik kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına dair Yönetmelik ile Harran Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun olarak gerçekleştirildi.

#### **3.1 Çalışma gruplarının oluşturulması**

Ortalama ağırlıkları 180-240 gr. olan 50 adet Wistar-albino cinsi dişi rat randomize olarak eşit sayıda (n = 10) 5 gruba ayrıldı. Ratlar çalışma öncesinde oda sıcaklığında ve 12 saat ışık 12 saat karanlık ortamda tutuldu. Tüm ratlar standart koşullar altında şebeke suyu ve standart rat yemi ile beslendi. Girişimden 8 saat önce tüm ratların beslenmesi kesildi

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

Deneyde kullanılan tüm ratlara 8 saat açlık sonrasında Ketamin 87 mg/kg intraperitoneal olarak (Ketalar; Parke Davis, Eczacıbasi, İstanbul, Türkiye) ve Xylazine 13 mg/kg (Rompun; Bayer AG, Leverkusen, Germany) dozlarında yapıldı. Gerekli olduğunda deney süresince bir kez olmak üzere ek doz yapılması planlandı. Yassin ve ark. yapmış olduğu iskem-reperfüzyon modeli örnek alındı (79). Ratların sol alt ekstremileri elastik bandaj ile sarılıp, saturasyon kaybı ve renk değişikliği sağlandı. İşlem sonunda histolojik doku örneği ve yeterli kan örneği alındıktan sonra ratlara anestezi altında dekapitasyon uygulandı. Tüm gruplarda toplam çalışma süreleri eşit tutuldu. İskemi ve reperfüzyon işlemlerinin sonunda ratların karın bölgesi dezenfekte edildikten sonra orta hat insizyonla laparotomi yapıldı. Vena kava inferiordan kan numuneleri alınıp iskemi reperfüzyon ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla TOS ve TAS ölçümü yapılmak üzere biyokimyasal incelemeye gönderildi. Böbrek numuneleri alınıp histopatolojik inceleme yapıldı.

### 3.3. Thymoquinone'in Hazırlanması

Thymoquinone dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılarak eritilip intraperitonel enjeksiyon için hazırlandı.

### 3.4. Deney Grupları ve Protokol

Beş grup oluşturuldu.

**Grup 1** (Sham, n=10): Çalışma boyunca anestezi uygulaması dışında hiç bir işlem gerçekleştirilmedi. Reperfüzyon süresinin bitimine uyan saatte doku ve kan örneği alındı.

**Grup 2** (Kontrol, İ/R, n=10): Anestezi sonrası sol alt ekstremiteye turnike ile 4 saat iskemi ve 2 saat reperfüzyon uygulandı, ilaç verilmedi. Reperfüzyon süresinin bitimine uyan saatte doku ve kan örneği alındı.

**Grup 3** (İ/R, Thymoquinone, TQ n=10): Anestezi sonrası sol alt ekstremiteye turnike ile 4 saat iskemi ve 2 saat reperfüzyon uygulandı, turnike açılmadan 5 dakika önce 20 mg/kg Thymoquinone, intraperitoneal (i.p.) olarak verildi. Reperfüzyon süresinin bitimine uyan saatte doku ve kan örneği alındı.

**Grup 4** (İ/R, Deksmetomidin, Dex n=10): Anestezi sonrası sol alt ekstremiteye turnike ile 4 saat iskemi ve 2 saat reperfüzyon uygulandı, turnike açılmadan 5 dakika önce 25mcg/kg deksmedetomidin, i.p. olarak verildi. Reperfüzyon süresinin bitimine uyan saatte doku ve kan örneği alındı.

**Grup 5** (İ/R, Deksmetomidin + Thymoquinone, Dex-TQ n=10): Anestezi sonrası sol alt ekstremiteye turnike ile 4 saat iskemi ve 2 saat reperfüzyon uygulandı, turnike açılmadan 5 dakika önce 25mcg/kg deksmedetomidin ve 20 mg/kg Thymoquinone, i.p. olarak verildi. Reperfüzyon süresinin bitimine uyan saatte doku ve kan örneği alındı.

### 3.5. Böbrek Dokularının Histopatolojik İncelenmesi

Histopatolojik inceleme için böbrek dokuları ayrı ayrı %10'luk tamponlu nötral formaldehit çözeltisinde fikse edildi. Örnekler parafin bloklara gömüldü. 5 mikronmetrelik kesitler alındı. Hematoksilen eozin boyası ile boyandı. 20 objektiflik büyütme kullanıldı.

### **3.6. Histopatolojik Skorlama**

Solez ve ark. (80) tarafından kullanılan skorlama sistemiyle böbrek hasarının şiddeti skorlandı. Skorlama için preparatlarda; Histolojik parametre olarak tübüler nekroz, interstisyel ödem, fırçamsı kenar kaybı ve tübül epitelinin bazal membrandan ayrılıp lümene dökülmesi (cast formasyonu) değerlendirildi. Yok:0 var:1 belirgin:2 olarak kabul edildi. Her örnek için tüm parametre skorları toplanarak histolojik skor belirlendi.

### **3.7. TAS Ölçümü**

Örneklerin TAS düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edilir (51). Dokulardaki TAS sonuçları Trolox Equivalent/gram protein olarak ifade edildi.

### **3.8. TOS Ölçümü**

Örneklerin TOS düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanılır. Sonuçlar  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equivalent/L olarak ifade edilir (81). Dokulardaki TOS sonuçları  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equivalent/gram protein olarak ifade edildi.

### **3.9. OSI Hesaplanması**

Örneklerin OSI hesaplanırken TAS değerleri 10 ile çarpılarak TOS ile birimler eşitlenir. Örneklerin içerdiği TOS düzeylerinin, örneklerin içerdiği TAS oranı OSI olarak belirtildi (82). Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi.

$$\text{OSİ} = \frac{(\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.})}{(\text{TAS, } \mu\text{mol trolox Equiv. / L.}) \times 10}$$

### 3.10. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmede SPSS paket programı kullanıldı. Gruplar arası niceliksel verilerin değerlendirilmesinde Kruskal Wallis testi kullanıldı ve Post Hoc Bonferroni düzeltmesi yapıldı.

Kruskal Wallis testi için  $p < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

Bu çalışmaya toplam 50 rat dahil edildi ve her grupta 10 adet olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Ratların tümüne çalışma protokolü uygulanıp, çalışma sonunda ratlardan kan ve doku örnekleri alındı ve ratlar sakrifiye edildi. Ratlardan alınan kan örneklerinde TAS, TOS ve OSİ parametreleri ölçülüp Gruplar arası istatistiksel olarak kıyaslandı (Tablo 2).

Uzman patoloj tarafından yapılan histopatolojik değerlendirmeler sonucunda elde edilen skorlar istatistiksel olarak kıyaslandı. Tüm gruplara ait EM örnekleri Resim 2–6 ‘da sunulmuştur. Gruplara ait histopatolojik skorlama Tablo 2 de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Gruplar Arası TAS, TOS, OSİ ve Histopatolojik Hasar Skorları Karşılaştırılması

	Sham G.	Kontrol G.	Dex.G.	TQ. G.	Dex-TQ G.	p
TAS	0.33±0.07 <sup>+</sup>	0.07±0.01*	0.13±0.03** <sup>+</sup>	0.14±0.03 <sup>+</sup>	0.13±0.01 <sup>+</sup> *	<0.05
TOS	18.68±3.41 <sup>+</sup>	36.97±6.26*	27.46±5.90** <sup>+</sup>	27.51±3.73** <sup>+</sup>	26.41±5.84** <sup>+</sup>	<0.05
OSİ	5.92±1.89 <sup>+</sup>	54.84±20.67*	21.29±7.11 <sup>+</sup> *	20.11±6.90** <sup>+</sup>	20.82±6.23** <sup>+</sup>	<0.05
Histolojik hasar skorlaması	2.60±0.69 <sup>+</sup>	4.60±0.69	3.10±0.87 <sup>+</sup>	2.80±0.91 <sup>+</sup>	3.10±1.44 <sup>+</sup>	<0.05

\* Sham grubuna göre anlamlı değer p<0.05

+ Kontrol grubuna göre anlamlı değer p<0.05

### 4.1. Grupların TAS Değerlerinin Karşılaştırılması

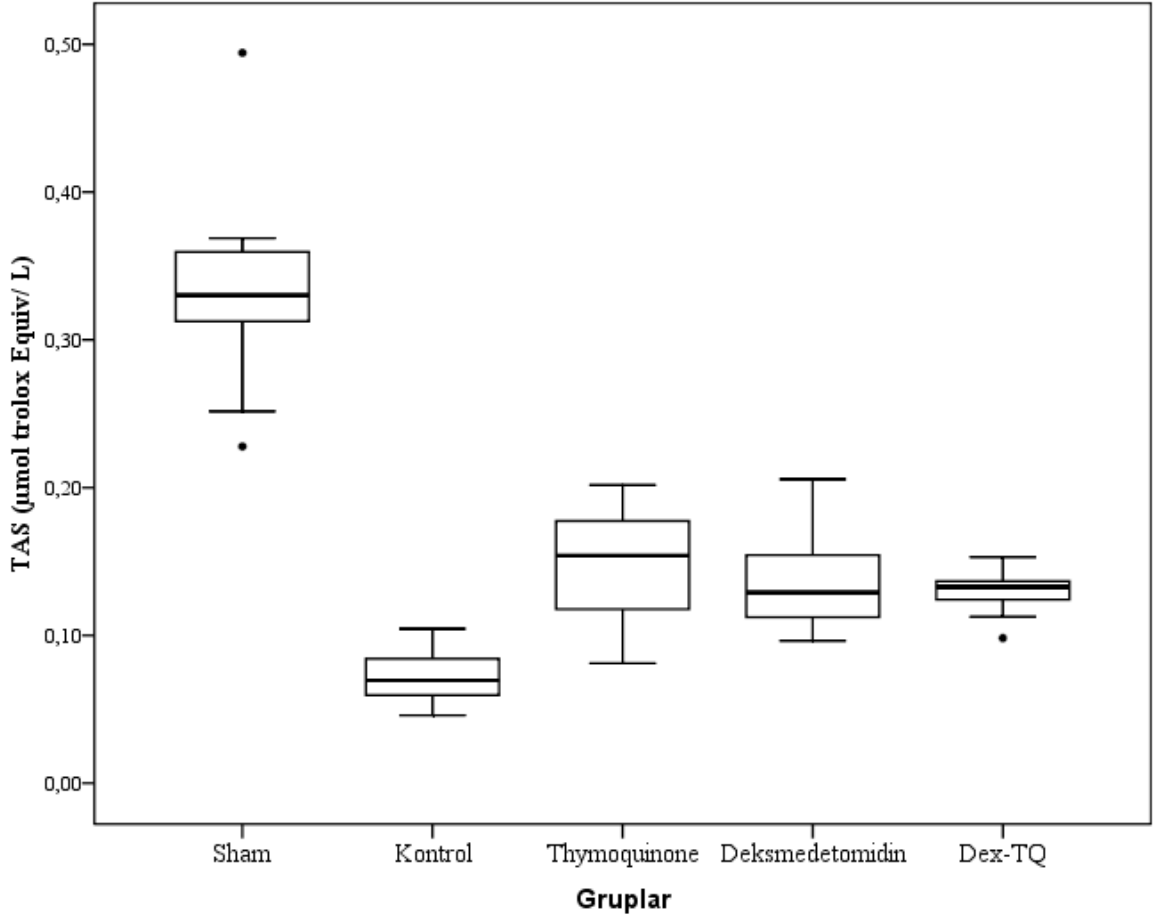
Alınan kan örneklerinde ortalama TAS değerleri hesaplandığında en düşük değerinin kontrol grubunda (0.07±0.01 mmolTroluks Eqv./L) olduğu en yüksek değer ise Sham grubunda (0.33±0.07 mmolTroluks Eqv./L) olduğu saptandı (Tablo 2) .

TAS gruplar arasında kıyaslandığında;

1-Sham, TQ, Dex, Dex-TQ gruplarının TAS değerleri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek tespit edildi (p<0.05).

2-Sham grubu TAS değeri diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. ( $p<0.05$ ).

3- TQ, DEX, DEX-TQ gruplarının gruplar arası TAS değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ) (Grafik 1).



**Grafik 1:** Gruplar arası TAS değerlerinin karşılaştırılması

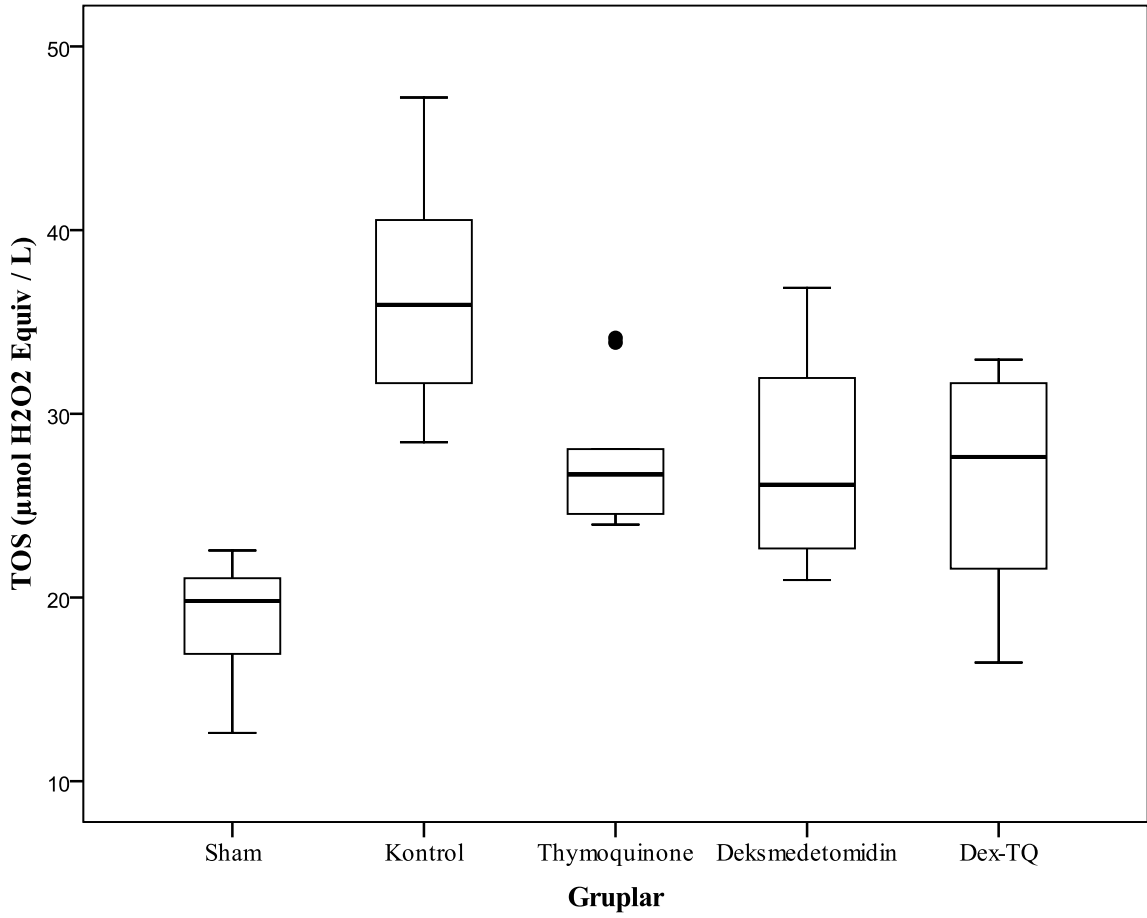
#### 4.2. Grupların TOS Değerlerinin Karşılaştırılması

Alınan kan örneklerinde ortalama TOS değerleri hesaplandığında en düşük değerinin Sham grubunda ( $18.68\pm3.41 \mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{Eqv/L}$ ) olduğu en yüksek değerinin ise Kontrol grubunda ( $36.97\pm6.26 \mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{Eqv./L}$ ) olduğu saptandı (Tablo 2).

1-Sham, TQ, Dex, Dex-TQ gruplarının TOS değerleri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük tespit edildi ( $p<0.05$ ).

2-Sham grubu TOS değeri diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. ( $p<0.05$ ).

3- TQ, Dex, Dex-TQ gruplarının gruplar arası TOS değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ) (Grafik 2).



**Grafik 2:** Gruplar arası TOS değerlerinin karşılaştırılması

#### 4.3. Grupların OSİ Değerlerinin Karşılaştırılması

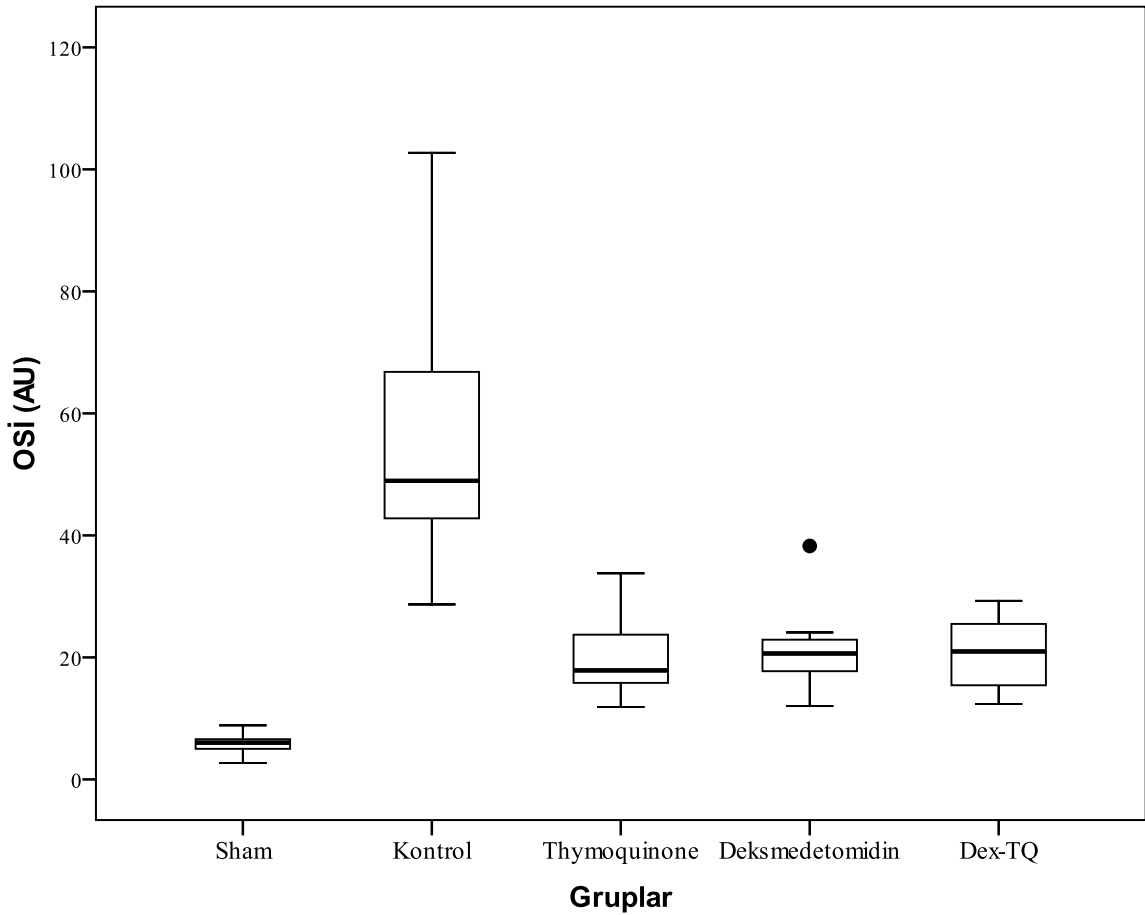
Alınan kan örneklerinde ortalama OSİ değerleri hesaplandığında en düşük değerinin Sham grubunda ( $5.92\pm 1.89$  AU) olduğu en yüksek değerin ise Kontrol grubunda ( $54.84\pm 20.67$  AU) olduğu saptandı (Tablo 2).

OSİ gruplar arasında kıyaslandığında;

1-Sham, TQ, Dex, Dex-TQ gruplarının OSİ değerleri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük tespit edildi ( $p<0.05$ ).

2-Sham grubu OSİ değeri diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. ( $p<0.05$ ).

3- TQ, Dex, Dex-TQ gruplarının gruplar arası OSİ değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ) (Grafik 3).



**Grafik 3:** Gruplar arası OSİ değerlerinin karşılaştırılması

#### 4.4. Grupların Histopatolojik Hasar Skorlarının Karşılaştırılması

Uzman patoloj tarafından her bir ratın böbrek numunesine histopatolojik hasar skorlaması yapıp grupların ortalama skorları karşılaştırıldı. En düşük değerinin Sham

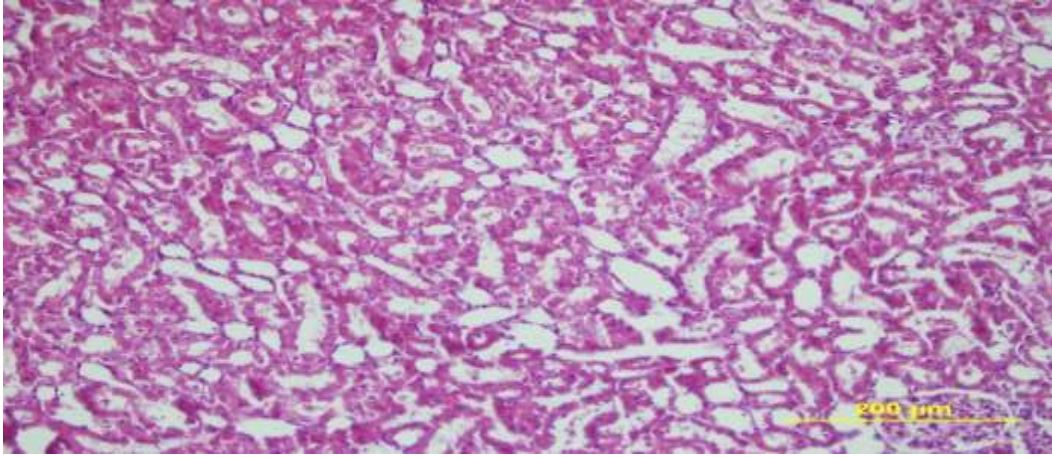


grubunda ( $2.60 \pm 0.69$ ) olduğu en yüksek değerin ise kontrol grubunda ( $4.60 \pm 0.69$ ) olduğu saptandı ( Tablo 2).

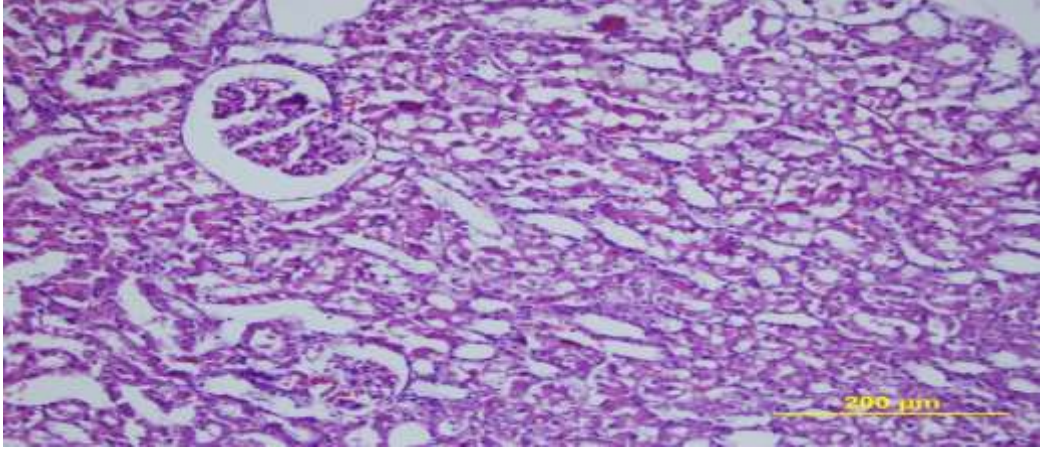
Histopatolojik Hasar Skoru gruplar arasında kıyaslandığında;

1-Sham, TQ, Dex, Dex-TQ Grupları Kontrol grubuna göre histopatolojik hasar skoru istatistiksel olarak anlamlı düşük tespit edildi ( $p < 0.05$ ) (Resim 1-5).

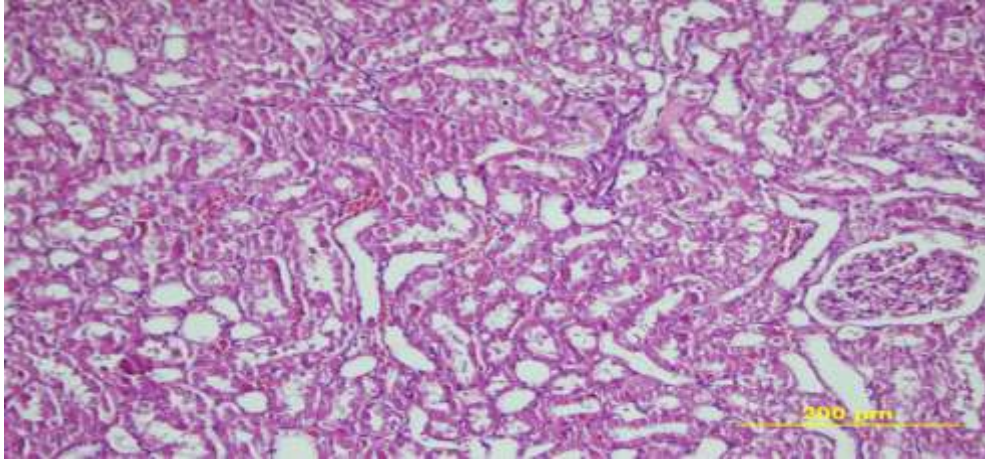
2- Sham, TQ, Dex, Dex-TQ Grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. ( $p > 0.05$ ).



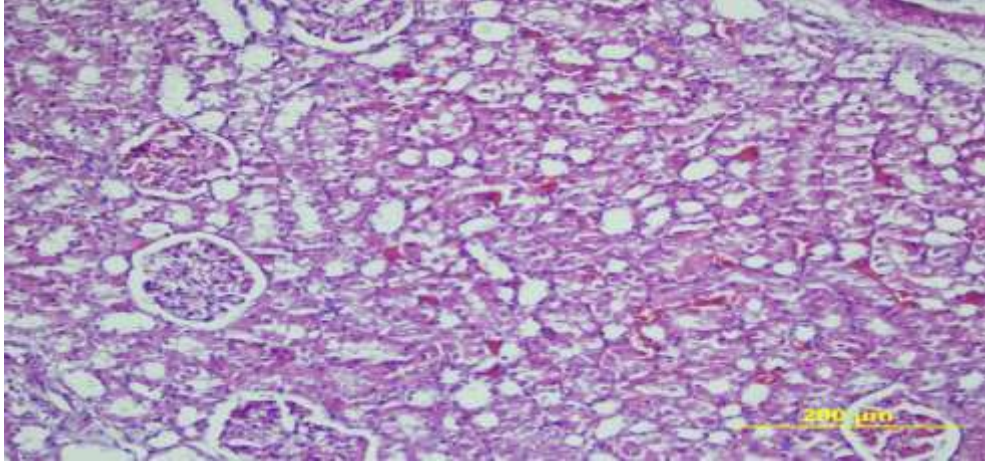
**Resim 1. Sham Grubu Böbrek HEx20** Fokal alanlarda hafif derecede interstisyel ödem, fırçasmsı kenar kaybı ve tübüler cast formasyonu varlığı izlendi.



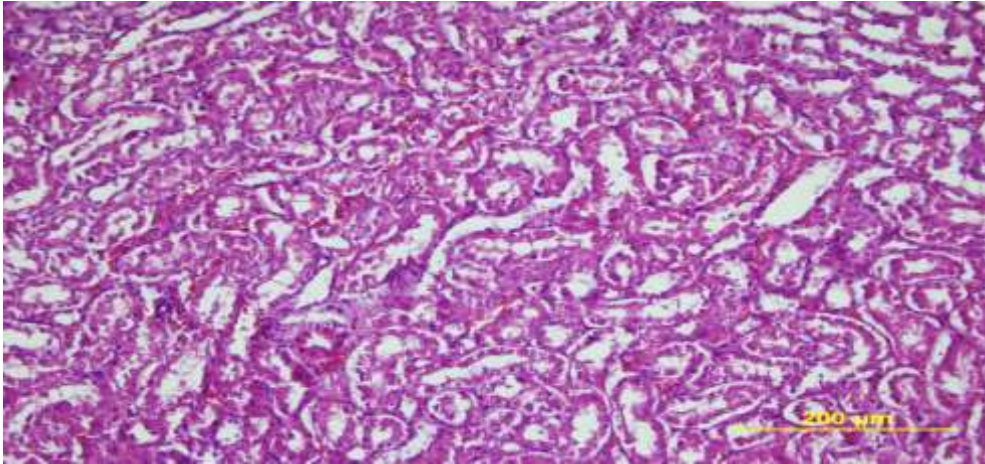
**Resim 2. Kontrol Grubu Böbrek HEx20** Yaygın tübüler hasarda görülen bulgular tübüler dilatasyon, interstisyel ödem, tübül epitel nekrozu tübül epitelinin lümene dökülmesi izlenmekte.



**Resim 3. Deksmedetomidin Grubu Böbrek HEx20** Ancak birkaç fokal alanda seçilebilen tübüler nekroza fokal alanlarda hafif interstisyel ödemin, fırçamsı kenar kaybının ve fokal hafif tübüler cast formasyonunun eşlik ettiği izlendi.



**Resim 4. Deksmetomidin + Thymoquinone Grubu Böbrek HEX20** Ancak birkaç fokal alanda seçilebilen tübüler nekroza fokal alanlarda hafif interstisyel ödemin, fırçasmsı kenar kaybının ve fokal hafif tübüler cast formasyonunun eşlik ettiği izlendi.



**Resim 5. Thymoquinone Grubu Böbrek HEX20** Ancak birkaç fokal alanda seçilebilen tübüler nekroza fokal alanlarda hafif interstisyel ödemin, fırçasmsı kenar kaybının ve fokal hafif tübüler cast formasyonunun eşlik ettiği izlendi.

## 5.TARTIŞMA

Bu çalışmadaki amacımız, ratlarda alt ekstremitede turnikeyle İR oluşturup meydana gelen İRH'ında Thymoquinone ve Deksmetomidin'in böbrek üzerine etkilerini araştırmaktır. 4 saat iskemi sonrası 2 saat reperfüzyon yapıldı ve çalışma sonunda böbrek ve kan numuneleri alındı. Böbreklerdeki hasar histopatolojik olarak incelendi ve alınan kan numunelerinde TAS, TOS, OSİ çalışıldı. Sonuçta TQ, DEX ve DEX-TQ gruplarındaki histopatolojik hasar ve TAS, TOS, OSİ değerleri kontrol grubuna göre oksidatif stres yönünden anlamlı şekilde daha olumlu bulundu.

Herhangibir nedenle oluşan iskemi dokunun oksijenden yoksun kalmasına ve beslenmesinin bozulmasına neden olur. İskemi sonucunda dokunun hipoksida kalmasıyla hipoksik doku hasarı ortaya çıkar, asidoza neden olur. Toksik metabolitler dokuda birikip, hücre disfonksiyonu ve sonrasında hücre ölümüne kadar gidebilen biyokimyasal reaksiyonlar başlar. İskemi sonrasında o bölgedeki kan akımının yeniden sağlanması (reperfüzyon) ve hücre içine moleküler oksijenin yeniden sunulması ile birlikte ROS türevleri hızla oluşur (1,2). İskemik bir dokunun yeniden kanlandırılması doku nekrozunun önlenmesi açısından önemli olmasına rağmen, iskemik dokuda kan akımının yeniden sağlanması ile reperfüzyon hasarı ortaya çıkmaktadır. İRH'dan SOR sorumlu tutulmaktadır (9).

Çeşitli cerrahi operasyonlarda özellikle ortopedik cerrahide alt ekstremitelerde turnike kullanımı sonrası İRH ortaya çıkmaktadır. İRH'nın lokal ve sistemik etkiler olur ve uzak organlardan böbrek tutulumu morbiditeyi ve mortaliteyi etkiler (9,10).

Turnike, günlük cerrahi pratiğinde çok kullanıldığından oluşturduğu etkileri görebilmek için deneysel alt ekstremitte İR modeli örnek alındı. Bu konudaki çalışmalarda ratların böbreklerinin verdiği yanıt çok iyi belirlenmiş ve çalışmaların çoğunda ratlar tercih edilmiştir (83). Bizde çalışmamızda Wistar albino cinsi ratları kullandık.

SOR böbreklerde glomerüller, tubulointertisyel ve endotelial değişikliklere neden olur. Glomerüller fonksiyonlar, temelde SOR'un mezenşial ve endotelial hücreleri hasarlamasıyla etkilenir. Mezenşial hücrelerce Low-density lipoprotein (LDL)'nin oksitlenmesiyle endotelial ve mezenşial hücrelerin apoptozis mekanizmaları aktive olur. Sonuçta glomeruloskleroz ve hızlı progresyon gösteren renal bozulmayla karakterize glomerulopati oluşur. Ayrıca oksidatif stres sonucu sitokinler, kemokinler, inflamatur enzimleri stimüle eden Nükleer Faktör Kappa

B aktivasyonu da glomerül hasarına neden olur. Glomerüler hasar sonucu seçici geçirgenlik özelliği kaybolur ve hemoglobin, okside LDL, nefrotoksik ilaçlar gibi makromoleküller tübülüs epiteliyle karşı karşıya gelirler. Hemoglobin içindeki serbest demir iyonları ve SOR proksimal tübül epitelindeki makrofajları aktive ederek intertisyel fibrozise ve sonuçta kronik böbrek yetmezliğine neden olurlar. SOR üretiminin artması damar düz kas hücrelerinin proliferasyonuna ve sonuçta renal hipertansiyona neden olur. SOR miktarı yükseldikçe endotelyumdaki bu hasar artar ve NO azalmasına ve vazokonstrüksiyona neden olur (84). İnsan hücrelerinde yapılan in vitro çalışmalarda anti-oksidanların bu hasarı önleyebildiği gösterilmiştir (85,86).

Böbrekteki hasarın derecesi iskeminin şiddetine ve süresine bağlı olarak değişebilmektedir. İskemiyle beraber oluşan SOR hasarda rol oynarken, paradoks olarak reperfüzyonla beraber biriken maddelerin dolaşıma yeniden katılmasıyla hasar şiddetlenebilir. İRH her zaman SOR suçlanmıştır ve akut allogreft rejeksiyonunda da rol aldıkları da gösterilmiştir. Siklosporin A gibi immunsupresif ajanlar da renal greftlerde oksidatif stressi indükleyip NO inhibisyonu ile vazokonstrüksiyona neden olurlar. Deneysel allogreft çalışmalarında NADPH oksidaz ve Ksantin Oksidaz aktivitelerinin artmış olması SOR üretiminin artmış olmasıyla ilişkili bulunup akut rejeksiyon sinyali olarak kabul edilmiştir. Tungsten ile Ksantin Oksidaz inhibe edilmiş; SOR üretimi, inflamasyon ve akut rejeksiyon sinyallerinin belirgin şekilde azaldığı görülmüştür. SOR temizleyicilerinin üretimi arttırıldığında ise; böbrek fonksiyonlarının iyileştiği, tübüler hasarın ve mortalitenin de azaldığı görülmüştür (87-89). ABY olan hastalarda görülen oksidatif stresin SOR üretimi ve anti-oksidan sistem arasındaki dengesizlikten kaynaklandığı düşünülmektedir. Ciddi ABY olan hastalardaki plazma tiyol düzeyi (anti-oksidan kapasite indeksi) sağlıklı ve son dönem KBY hastalarına göre daha düşük bulunmuş, plazma karbon seviyesi (oksidatif hasar indeksi) aynı hasta gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur (90).

İRH nedeniyle oluşan SOR birçok doku ve organda istenmeyen sonuçlara neden olduğundan anti-oksidan tedaviler üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Tiklopidin, mannitol, allopürinol, askorbik asit, süperoksit dismutaz gibi bazı maddeler denenmiş ve deneysel olarak iskemi reperfüzyon hasarını önlemede etkili oldukları gösterilmiştir (91). Deneysel KBY oluşturulan ratlarda anti-oksidan özellikteki N-asetilsistein (NAC)'in lipid peroksidasyonu ve inflamasyonu, plazma aldesteron seviyesi ve protein atılımını azalttığı, böbrek fonksiyonlarını geliştirdiği gösterilmiştir (92). Diabetik nefropatinin patogenizinde

oksidatif hasar rol aldığından (93) tedavide anti-oksidanların denendiği çalışmalar yapılmıştır. Anti-oksidan özellikteki E vitamini insanlarda, alfa lipoik asitin ise ratlarda diabetik nefropatide hasarı azalttığı gösterilmiştir (94).

Ratlarda alt ekstremitte İRH oluşturmak için çeşitli modeller kullanılmıştır. Femoral arter klemplenmesi veya bandaj yöntemleri kullanılır (95-98). Cerrahide kullanılan turnikeye daha yakın olması nedeniyle çalışmamızda Yassin ve ark. uyguladığı yöntemi model olarak ratların sol alt ekstremitelerine elastik bandajla iskemi sağlandı (79).

Deneysel çalışmalarda İR süresi hakkında ortak bir görüş yoktur. Turnikeyle oluşturulan iskemide hasarın 1.veya 2. saatte başladığını gösteren çalışmalar (25) olmakla beraber uzak organ hasarının 4. saatte geliştiği de bildirilmiştir (99). Sobhani ve ark. iskemi sonrası renal hasarın en erken 2 saat sonra gözlenebildiği belirtmişlerdir (100). Elastik bandaj ile yapılan iskemi reperfüzyon modelinde 4 saatlik iskemi süresini takiben 2 saat reperfüzyon uygulamışlardır (95,101). Çalışmamızda önceki çalışmalar da dikkate alınarak 4 saatlik iskemi takiben 2 saatlik reperfüzyon yapıldı.

IRH'nı azaltmak için deneysel modellerde birçok kimyasal ve ilaç kullanılmış fakat ciddi yan etki veya cerrahi sırasında kullanımı uygun olmadığından günlük pratikte yer alamamışlardır. Bu yüzden anestezi sırasında kullanılan sedatif ve hipnotiklerin IRH'ndaki etkileri önemli olmuştur (102). Çalışmamızda anestezi ve yoğun bakımda sedasyon amacıyla kullanılan alfa-2 agonisti olan Deksmetomidin'i İRH'na karşı koruyucu etkilerinden (103,104) dolayı tercih ettik.

IR'a bağlı uzak organ hasarında Deksmetomidin'in etkisi çeşitli çalışmalarla incelenmiştir. Renal arter klemplenmesiyle oluşan İRH'ın akciğer (105) veya karşı böbrek üzerindeki etkileri (96,106,107) çalışılmıştır. Karaciğer İR modelinde, karaciğerdeki etkileri (108) ve uzak organ olarak yine böbrek ve akciğer üzerindeki etkileri de (109) araştırılmıştır. Ekstremitte İR modeli olarak fazla çalışma olmamakla beraber Deksmetomidin insanda üst ekstremitte İR modelinde çalışılmıştır (110). Alt ekstremitte IRH'nda Deksmetomidin'in etkisine yönelik yeterli veri yoktur.

Deksmetomidin'in İR modellerinde böbrek üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda histopatolojik değerlendirmeler yapılmıştır. Böbreklerde İRH'na bağlı tübüler epitelyumda nekroz, apoptozis, nötrofil infiltrasyonu, fırçamsı kenar kaybı gibi parametreler incelenmiş ve çeşitli hasar skorlarıyla değerlendirilmiştir. Koçoğlu ve ark. yaptığı çalışmada

İRH'na karşı deksmedetomidinin böbreklerdeki koruyucu etkisi histopatolojik olarak gösterilmiştir (96). Yine Renal İR modelinde akciğerde (105) ve karşı böbrekte (111) koruyucu olduğu alınan kesitlerde gösterilmiştir. Mezenter arter oklüzyonuyla oluşturulan İR modelinde alınan böbrek numuneleri incelendiğinde Deksmetomidin grubunda histopatolojik olarak kontrol grubuna göre daha az hasar görülmüştür (107). Çalışmamızda Solez ve ark.'nın (80) histopatolojik değerlendirme ve skorlama sistemi kullanıldı. Uzman patolog tarafından tübüler nekroz, interstisyel ödem, fırçamsı kenar kaybı ve tübül epitelinin bazal membrandan ayrılıp lümeneye dökülmesi (cast formasyonu) değerlendirildi. Deksmetomidin grubu Kontrol grubuna göre histopatoloji hasar skoru anlamlı olarak düşük tespit edildi, Sham grubu ve TQ, Dex-TQ grubuna göre fark bulunmadı.

Deksmetomidin'in İRH'nda anti-oksidanlara etkisi araştırılmıştır. Uysal ve arkadaşları ratlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında İR sonrası Deksmetomidin verilen grupta NO, MDA ve myeloperoksidaz (MPO) seviyelerinin kontrol gruplarına göre daha düşük olduğunu göstermişlerdir (112). Deneysel mezenterik arter oklüzyonuna bağlı İR modelinde MDA, TAS, TOS, lipid hidroperoksidaz, SOD, katalaz ve MPO aktivite seviyeleri incelenmiş ve Deksmetomidin verilen grupta TOS, lipid hidroperoksidaz, MDA ve MPO seviyeleri kontrol grubuna göre daha düşük, TAS, SOD, Katalaz aktivitelerinin ise kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (107). Karaciğer İR modelinde ise Dex grubunda kontrol grubuna göre TAS, paraksonaz seviyeleri daha yüksek, TOS ve OSİ seviyeleri daha düşük bulunmuştur (109).

Testiküler torsiyonla oluşturulan İR modelinde Deksmetomidin verilen grupta TAS seviyesi kontrol grubuna göre daha yüksek, MDA seviyesi ise daha düşük bulunmuştur (103). Ratlarda overlerde İR yapılmış Dex verilen gruptaki MDA seviyesi ve DNA hasarı kontrol grubuna göre daha düşük, glutatyon seviyesi ise daha yüksek bulunmuştur (113).

Çalışmamızda TAS, TOS, OSİ seviyeleri ölçüldü. Dex, TQ, Dex-TQ grupları arasında anlamlı fark olmamakla beraber bu 3 gruptaki TAS kontrol grubuna göre yüksek, Sham grubuna göre düşük, TOS ve OSİ ise kontrol grubuna göre düşük Sham Grubuna göre yüksek bulundu. (Tablo 2) ( $p < 0.05$ ). Sonuçlarımız daha önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Dex'in presinaptik alfa reseptörler aracılığıyla Noradrenalin salınımını inhibe etmesiyle anti iskemik etki gösterdiği düşünülmektedir (114). Sonuçta noradrenalin etkileri

önlenecek SOR üretimi ve potansiyel zararlı etkilerinin önüne geçebilir. Renal hasar korunmasında deksmedetomidin rolü çok açık olmamakla beraber, Deksmetomidin renal arterlerde vazodilatasyon yapıp, direk vasküler etkiyle glomerüler filtrasyonu artırdığı kabul edilmektedir (96). Başka bir çalışmada Dex'in, HMGB-1 (High Mobility Group Protein B1) salınımını ve TLR-4 (Toll-Like Receptor 4) oluşumunu azaltarak inflamatuvar kaskadı baskıladığı ve sonuçta renal hücre nekrozunu azaltmak suretiyle böbrekteki İRH'nı azalttığı gösterilmiştir (105). Klinik çalışmalarda Dex'in TNF- $\alpha$  ve IL-6 seviyelerini azaltıp anti-inflamatuvar etki gösterdiği belirtilmiştir (115). İRH'nda bu anti-inflamatuvar etkiyle koruma sağladığı düşünülmektedir (107)

Thymoquinone, N. Sativa'dan elde edilen aktif bileşenidir ve kanıtlanmış teröpatik özelliklerinden dolayı medikal bitkiler arasında popüler olmuştur. Anti-inflamatuvar, anti-neoplastik, gastroproktetif, anti-epileptik, anti-histaminik gibi birçok özellik gösterir. (Tablo 1) En önemli özelliği anti-oksidan etki göstermesidir. Anyon temizleyici gibi davranıp oksijen radikallerini nötralize eder. İRH'nda meydana gelen SOR birçok hastalığın patogenezinde rol aldığından anti-oksidan özelliğinden dolayı birçok deneysel ve klinik çalışmalarda Thymoquinone ve N.Sativa ürünleri kullanılmıştır (72).

İnci ve ark. yaptıkları çalışmada akut bakteriyel prostatit modeli için E.coli enjekte edilen ratlarda Thymoquinone'in anti-inflamatuvar ve anti-oksidan etkileri araştırmışlar. Bakteriyel enjeksiyondan 1 saat sonra Thymoquinone 10mg/kg dozunda i.p. verilmiş ve 24, 48, 72 saat sonra ratlar ayrı gruplar olarak kurban edilmişler. Thymoquinone grubundaki ratlarda kontrol grubuna göre GPx aktivitesi artmış, katalaz, MDA, SOD aktivitesi ve histolojik hasarın ise azalmış olduğu raporlanmıştır (116). Ratlarda etanolle indüklenmiş gastrik mukozal hasarda Thymoquinone'nin mide dokusunda histamin ve MPO aktivitesini azaltarak gastroprotektif etki gösterdiği ve bunun anti-histaminik ve anti-oksidan etkileriyle geliştiği bildirilmiştir (117). Farelerde karbontetrahidroklorür (CCl<sub>4</sub>) ile oluşturulan hepatotoksisite modelinde Thymoquinone'in doza bağımlı olarak in-vitro olarak non-enzimatik lipid peroksidasyonu inhibe ettiği ve bu anti-oksidan özelliğinden dolayı hepatotoksisitede koruyucu olduğu gösterilmiştir (118). Aynı modelle yapılmış başka bir çalışmada ise CCl<sub>4</sub> ile hepatotoksisite oluşturmadan 1 saat önce farklı dozlarda Thymoquinone verilmiş. 12.5 mg/kg dozunda Thymoquinone verilen grupta serum AST, ALT, LDH seviyelerindeki yükselmenin belirgin şekilde azaldığı görülmüştür. Ayrıca CCl<sub>4</sub> ile yükselen MDA Thymoquinone verilen grupta belirgin şekilde düştüğü ve toksisiteyle



azalan sülfidril seviyesinin Thymoquinone ile yükseldiği görülmüştür. Aynı çalışmada Thymoquinone'nin yüksek dozlarda i.p. olarak verilmesinin lethal olabileceği ve median lethal doz (LD<sub>50</sub>) 'un 90.3 mg/kg olduğu belirtilmiştir (119). Thymoquinone'nin ratlardaki LD<sub>50</sub> dozunun araştırıldığı çalışmada i.p. enjeksiyonlarda 57.5 mg/kg, oral LD<sub>50</sub> ise 794.3 mg/kg olarak raporlanmıştır. Yüksek dozda Thymoquinone verilen ratların organları incelendiğinde hasar ve nekroz olmadan konjesyon görülmüş ve ölüm nedenin hipotansiyon veya şok olabileceği öngörülmüştür. Sonuç olarak Thymoquinone'nin ratlarda i.p. verilmesinde en güvenli doz 25mg/kg olduğu belirtilmiştir (120). Biz de çalışmamızda Thymoquinone 'i ip olarak 20mg/kg dozunda verdik. Dex ile yapılan çeşitli İR modellerinde (107,111,121) kullanılan dozları (10 mcg/kg, 25 mcg/kg, 100 mcg/kg) karşılaştırdık ve çalışmamızda kullanılacak Dex dozunu 25 µg/kg olacak şekilde belirledik.

Farklı İR modellerinde Thymoquinone'in etkileri araştırılmıştır. 4 damar oklüzyonuyla meydana getirilen serebral İR modeli oluşturulmuş ratlarda Thymoquinone'in etkisinin araştırıldığı çalışmada İR sonrası alınan hipokampus numunelerinde lipid peroksidasyonun seviyesi için MDA ölçülmüş. Thymoquinone grubundaki MDA seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (122). Başka bir serebral İR modelinde ise bilateral ana karotis arterlerine 10 dk boyunca yapılan oklüzyonla iskemi oluşturulmuş ve ardından reperfüzyon yapılmıştır. İskemiden 5 gün önce Thymoquinone oral olarak vermeye başlanmış ve 7 gün süren reperfüzyon döneminde de Thymoquinone verilmesine devam edilmiş. Sakrifiye edilen ratların hipokampus numunelerinde MDA, SOD, katalaz ve glutatyon seviyeleri ölçülmüş ve histolojik incelemeyle nöron hasarı da değerlendirilmiştir. Sonuç olarak iskemi öncesi Thymoquinone verilen grupta MDA seviyesi kontrol grubuna göre düşük bulunmuş, SOD, Katalaz, Glutatyon seviyeleri ise daha yüksek bulunmuştur. İskemik kontrol grubunda histolojik olarak ölçülen %77 hücre kaybı, Thymoquinone grubunda % 24 bulunmuştur (123). Bu çalışmalar göstermiştir ki; Thymoquinone oksidatif strese karşı koruma sağlayıp ve serebral iskemi gibi nörodejeneratif durumlarda nöroprotektif etkiyle umut verici bir ajan olarak karşımıza çıkmaktadır.

Karaciğer İR modeli çalışan Yıldız ve ark. çalışmalarında ratlarda karaciğerin damarlarını klempleyerek 30 dk iskemi takiben 60 dk reperfüzyon yapmışlardır. Kontrol ve sham grupları dışında bir gruptaki ratlara N.Sativa yağı ip olarak verilmiş, işlem sonunda alınan kan örneklerinde AST, ALT, LDH seviyeleri çalışılmış ayrıca karaciğer dokusunda TAS, TOS, OSİ, MPO ve katalaz çalışılmıştır. Karaciğer dokuları ışık mikroskopunda

histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak karaciğer enzimleri, TOS, OSİ, MPO düzeyleri N.Sativa verilen grupta kontrol grubuna göre belirgin şekilde düşük bulunmuş, TAS, katalaz ise daha yüksek bulunmuş. Histopatolojik hasar N.sativa grubunda kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur (124). İR sonrası oksidatif stres oluşur ve dokuda nötrofil infiltrasyonu görülür. Nötrofillerden salınan MPO inflamatuvar yanıtı göstermektedir. N.Sativa grubunda MPO ve TOS'un düşük, TAS'ın yüksek bulunması N.Sativa'nın anti-oksidan ve anti-inflamatuvar etkilerinin olduğunu göstermiştir.

Renal İR modeli uygulanan ratlarda Thymoquinone'in etkilerinin araştırıldığı çalışmada 30dk iskemi 4 saat reperfüzyon sonrası hem böbrek hem de karaciğer numuneleri incelenmiştir. Doku örneklerinden MDA, SOD, GST seviyeleri, serumda kreatinin ve ALT seviyeleri ölçülmüştür. İR sonrası yükselen CYP3A1 ve spermidine/spermine N-1-acetyltransferase (SSAT) mRNA ekspresyonları da PCR ile çalışılmıştır. Sonuç olarak Thymoquinone grubu kontrol İR grubuyla karşılaştırıldığında Thymoquinone grubunda böbrek ve karaciğer dokularında MDA seviyeleri daha düşük, SOD, GST daha yüksek, serum kreatinin ve ALT daha düşük bulunmuştur. SSAT ve CYP3A1 gen ekspresyonlarına bakıldığında, İR ile beraber her iki ekspresyonda belirgin yükselme görülmüştür. Thymoquinone verilen grupta hem böbrek hemde karaciğer CYP3A1 gen ekspresyonu kontrole göre belirgin düşük bulunmuştur. SSAT ekspresyonu sham grubunda izlenmemiş, karaciğerdeki SSAT ekspresyonu Thymoquinone grubunda kontrol grubuna göre belirgin düşük bulunmuştur (125).

Başka bir renal İR modeli uygulanan çalışmada bilateral renal arterler 45 dk boyunca klemplenip iskemi oluşturulmuş, takiben 45 dk reperfüzyon yapılmıştır. N.Sativa iskemiden 6 saat önce çalışma grubuna verilmiş. Çalışma sonunda serum üre, kreatinin değerleri; böbrek dokusunda ve TAS, TOS, OSİ, katalaz değerleri çalışılmış. Ayrıca böbrek dokuları hasar yönünden histopatolojik olarak incelenmiş. Sonuç olarak N.Sativa verilen grup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında N.Sativa üre, kreatinin ve tübüler nekroz skorunun azaltılmasında etkili bulunmuş. Ayrıca hem kan hemde böbrek numunelerinde N.Sativa'nın kontrole göre TAS'si yüksek, TOS ve OSİ ise düşük bulunmuştur (126).

Diabetik nefropatinin patogenizinde oksidatif hasar rol aldığından (93) tedavide çeşitli anti-oksidanlar denenmiştir. Thymoquinone ile yapılan deneysel bir çalışmada, ratlarda oluşturulan diabetik nefropatideki etkileri araştırılmıştır. Ratlar streptozotocin (STZ) ile indüklenip deneysel diabet oluşturulmuş ve STZ verilmesinden 2 gün sonra hiperglisemik

olduğu görülen ratlar diabetik kabul edilip çalışmaya dahil edilmiştir. Thymoquinone grubuna 12 hafta boyunca günde 1 defa oral 50mg/kg Thymoquinone verilmiş, kontrol grubuna ise aynı miktarda serum fizyolojik verilmiş. Çalışma sonunda ratlar sakrifiye edilip böbrek dokusu ve kan numuneleri alınmış. Yapılan histolojik incelemede Thymoquinone verilen grupta glomerül boyut, kapsüler, glomerüller ve tubüler bazal membran kalınlığının kontrol grubuna göre azaldığı; mezenşial matrix ve renal fonksiyonların kontrol grubuna göre artmış olduğunu saptamışlar. Kan glukoz seviyesi kontrolden düşük, insülin seviyeleri ise yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak STZ ile indüklenmiş diabetik ratlarda Thymoquinone'in morfolojik ve fonksiyonel iyileşme sağladığını savunmuşlardır (127).

Bazı ilaçların nefrotoksik etkilerinin SOR üretimini arttırmalarıyla ilgili olduğu düşünülmektedir. Vankomisine bağlı nefrotoksisitenin patogenezinde altta yatan sebebin oksidatif stres olduğu düşünülmektedir. İnflamatuar olayların indirekt şekilde SOR üretimini arttırdığı ve vankomisinle toksik etkinin bu yolla olduğu yapılan *invivo* çalışmada (128) gösterilmiştir. Sisplatin, aminoglukozid, doksorubusin gibi çeşitli ajanlarla nefropatinin oluşturulduğu toksik böbrek yetmezliği modellerinde hücre ölümlerinin sebeplerinden birinin de SOR üretimi olduğu düşünülmüştür (72). İfosfamid renal glutatyon üretimini azaltıp, lipid peroksidazı arttırmakta ve sonuçta oluşturduğu oksidatif stresle İfosfamidle indüklenmiş Fanconi sendromuna neden olduğu düşünülmektedir. Badary OA'nin yaptığı çalışmada (129) İfosfamitle indüklenmiş ratlarda Fanconi sendromu oluşturulmuş ve Thymoquinone oral olarak bir gruba verilmiş. Thymoquinone kontrol grubuyla karşılaştırıldığında renal glutatyon üretiminin azalıp, lipid peroksidazı artmasına karşı koruyucu etki gösterdiği, fosfatüri, glikozüri, artmış serum üre-kreatinin seviyelerini belirgin şekilde düzelttiğini bildirmiştir. Aynı çalışmada birgrup farede deneysel tümör modeli oluşturulmuş ve anti-tümör tedavisinde verilen İfosfamidin yan etkilerine karşı Thymoquinone'in etkileri de araştırılmış. Sonuçta Thymoquinone'in kontrol grubuna göre kilo kaybı ve mortaliteyi azalttığı görülmüştür. Bu çalışma sonunda Thymoquinone'in İfosfamidin teröpatik ve anti-tümör etkinliğini arttırdığı, İfosfamidle indüklenmiş nefrotoksisiteyi de azalttığı görülmüştür.

Civa klorid ( $HgCl_2$ ) potent bir nefrotoksik ajandır ve çeşitli deneysel çalışmalarda fonksiyonel, hemodinamik ve histolojik hasar oluşturduğu bildirilmiştir. Civa ile indüklenmiş nefrotoksisitenin patogenezinde oksidatif stres ve SOR kritik rol oynar. Bu duruma kanıt olarak da antioksidan savunma sisteminin ana elamanı olan glutatyon ve tiyollerin Civa sonrasında belirgin şekilde düşmesi gösterilmiştir (130). Bu konuda Thymoquinone'in

etkinliğini arařtırmak için HgCl<sub>2</sub> ile deneysel nefrotoksisite oluřturulmuřtur. Civa verildikten sonra Thymoquinone verilen grup ve kontrol grubu arasında renal fonksiyonlar, histolojik deęerlendirme ve anti-oksidan enzimler açısından karřılařtırma yapılmıř. Thymoquinone'in renal fonksiyonları koruduęu, anti-oksidanlardaki dūřuřu belirgin řekilde azalttıęı ve civanın histolojik olarak neden olduęu apoptozis ve proliferatif reaksiyonları belirgin řekilde azalttıęı gōrūlmūřtur. Sonuçta Thymoquinone'in civanın neden olduęu nefrotoksisiteye karřı gūlū bir koruyucu etki gōsterdięi ve bunun antioksidan etkilerinden kaynaklandıęı kanaatine varılmıřtır (131).

Thymoquinone'nin anti-oksidan özellięi nedeniyle farklı İR modelleri çalıřılmıř fakat alt ekstremite İR modelinde literatūrede fazla çalıřma olmadıęı gōrūlmūřtur. Thymoquinone'in alt ekstremite İR modelinde etkilerinin arařtırıldıęı bir çalıřmada, İR femoral arter ligasyonu ile saęlanmıřtır. Yine çalıřmamızdan farklı olarak 2 saat iskemi ve 1 saat reperfūzyon uygulanmıřtır. Reperfūzyondan 1 saat önce Thymoquinone farklı dozlarda (20, 40, 80mg/kg) 3 gruba (n:8) ayrılarak i.p. verilmiř ve sonuçları karřılařtırmak içinde kontrol ve sham grupları oluřturulmuř. İRH dūzeyini belirlemek için IR sūresince elektromyelografi ile (EMG) potansiyeller kaydedilmiř ve alınan kas numunelerinden oksidatif markerlar lūlmūř. MDA ve sūlfidril grupları lipid peroksidaz belirteçleri olarak kabul edilip lūlmūř, antioksidan seviye ise plazma ferik indirgeme kapasitesine (FRAP) gōre lūlmūř. Çalıřma sonunda EMG'de elde edilen ortalama pik amplitūdlerine bakıldıęında; kontrol grubunda sham grubuna gōre amplitūdlerin azaldıęı, Thymoquinone verilen gruplardaki amplitūdler kontrol grubuna gōre yūksək olduęu gōrūlmūřtur. Oksidatif stresin beliteci olan MDA seviyelerine bakıldıęında ise, Thymoquinone verilen gruplardaki MDA seviyesi kontrol grubuna gōre belirgin řekilde dūřūk bulunmuřtur. Kontrol grubunda İR ile azalan ve anti-oksidan gūcū gōsteren FRAP seviyesi, Thymoquinone gruplarında artmıř olarak bulunmuř. Total sūlfidril seviyesi kontrol grubunda IR sonrası azalmıř olarak bulunmuř, Thymoquinone verilen gruplarda ise kontrole gōre belirgin yūksək bulunmuřtur. Sūlfidril grupları oksidatif strese hassatırlar ve iskemi sonrası azalırlar. Tūm bu bulgular sonucunda Thymoquinone'in alt ekstremite İR modelinde anti-oksidan özellik gōsterdięi ve çizgili kas üzerinde meydana gelen oksidatif stresin oluřturduęu hasarı önledięi sonucuna varılmıřtır. EMG sonuçlarına bakılarak Thymoquinone'nin hem iskemi hem de reperfūzyon fazında koruyuculuęu olduęu ve iskemide bozulan nōronlardaki iletkenlięin de Thymoquinone tarafından korunduęu saptanmıřtır (132).

Turnikeyle oluşturduğumuz alt ekstremitte İR modelinde, bu çalışmaya benzer veriler elde ettik. Thymoquinone verdiğimiz gruptaki TAS kontrole göre daha yüksek; TOS ve OSİ ise daha düşük bulduk. Yukarda bahsettiğimiz çeşitli İR modellerinin gösterdiği gibi bizde de Thymoquinone'in anti-oksidan özellik gösterdiğini düşünmekteyiz. Thymoquinone anti-oksidan özelliği çeşitli mekanizmalarla ilişkilendirilmiştir.

1- Yapısındaki 'quinone (kinon)' kuvvetli redoks özelliği gösterir. Bariyerleri kolaylıkla geçip, hücre içi bölümlere rahat bir şekilde ulaşabilir ve bu şekilde oksijen radikallerini temizleyebilmektedir. Kinon redüktaz 2 elektronu redükte edip SOR oluşumunu sağlayan döngüye elektron katılmasını engeller ve bu şekilde oksidatif stresi azaltır (133).

2- Thymoquinone invitro demir bağımlı mikrozomal lipid peroksidasyonu inhibe etmiştir (72).

3- İnflamasyon durumunda makrofajlar ve nötrofiller gibi inflamatuvar hücrelerden oksidanlar, eikosonaidler, sitokinler ve litik enzimler salınır. İnflamasyonda rol oynayan LO ve COX yollarını Thymoquinone inhibe eder ve anti-iflamatuvar etkiyle oksidatif stresi baskılar (134).

E vitamini, C vitamini, Curcumin, Likopen ve Selenyum anti-oksidan özelliği bilinen maddelerdir. Thymoquinone'in bu anti-oksidanlarla karşılaştırıldığı derlemede sisplatinle indüklenmiş nefrotoksisite modeli uygulanmış deneysel çalışmaların üre, kreatinin ve kreatinin klirensindeki düzelmeye, histopatolojik hasar sonuçları karşılaştırılmıştır. Derlemeye dahil edilen bütün çalışmalarda tek doz sisplatin uygulanmış ve klinik sonuçlarına göre karşılaştırma yapılmıştır. Sonuçta en belirgin klinik düzelmelerin diğer anti-oksidanlara göre Thymoquinone ile olduğu görülmüştür (72). Literatürde Thymoquinone ve Deksmetomidin'in birlikte çalışıldığı bir çalışmaya rastlamadık. Çalışmamızda anti-oksidan bu iki ajanın etkilerini ayrı gruplar halinde ve bir grupta da Deksmetomidin ve Thymoquinone beraber verilerek birbirlerine olan üstünlüklerini karşılaştırmayı amaçladık. Elde ettiğimiz veriler sonucunda TAS, TOS, OSİ ve histopatolojik olarak istatistiksel olarak bir fark bulamadık.

Sonuç olarak; Thymoquinone ve Deksmetomidin'in iskemi reperfüzyona bağlı gelişen böbrek hasarını önemli ölçüde azaltmaktadır. Bu iki ajanın oksidatif stres açısından birbirlerine göre bir üstünlükleri bulunmamaktadır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Alt ekstremitte İR oluşturulan ratlarla yaptığımız çalışma sonucunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde

1- Alt ekstremitte İR sonucu oksidatif stres oluşmakta ve bu da lokal ve sistemik hasar oluşturmaktadır. İR uzak organ böbrekte hasar oluşturmaktadır.

2- Thymoquinone, Deksmetomidin ayrı ayrı veya birlikte verildiğinde biyokimyasal olarak anti-oksidan özellik göstermekte İRH'nda koruyucu özellik göstermektedir.

3- Thymoquinone, Deksmetomidin ayrı ayrı veya birlikte verildiğinde İR'na bağlı böbrekteki hasarı histopatolojik olarak önlemektedir.

4- Thymoquinone ve Dex'in oksidatif stres ve histopatolojik hasar yönünden birbirlerine üstünlükleri saptanmamıştır.

5- Klinikte turnikenin kullanıldığı cerrahi operasyonlarda böbrekler oksidatif stresten dolayı etkilenmektedir. ABY, KBY gibi renal fonksiyonların kötü olduğu veya transplantasyon gibi renal fonksiyonların korunması gereken hasta gruplarında anestezi yönetiminde ve yoğunbakım takiplerinde Deksmetomidin'in bu etkileri göz önünde tutulmalıdır.

6- Thymoquinone'in deneysel çalışmalarda antioksidan özellik gösterdiği görülmüştür. Bu özelliklerinden klinikte faydalanabilmesi için ileri klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 7. KAYNAKLAR

- 1- Şener G, Yeğen BÇ. İskemi Reperfüzyon Hasarı.Klinik Gelişim Dergisi.2009;22: 5-13.
- 2- Kandilci HB, Gümüsel B. Akciğerlerde İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve İskemik Önkoşullama. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi. 2005; 25:1 35-49.
- 3- Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. İstanbul; Mimoza Yayınları. 2000
- 4- Dammers R, Wehrens XH, oude Egbrink MG, Slaaf DW, Kurvers HA, Ramsay G. Microcirculatory effects of experimental acute limb ischaemia-reperfusion. Br J Surg. 2001; 88:816-24.
- 5- Koç M, Arıkan H, Odabaşı Z. Akoğlu E. İskemik ve toksik akut tübüler nekroz patofizyolojisi. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 2006;15 (Suppl:1) 13-24.
- 6- Onal A, Astarcioglu H, Ormen M, Atila K, Sarioğlu S. The beneficial effect of L-carnitine in rat renal ischemia-reperfusion injury. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2004; 10(3):160-7.
- 7- Kawasaki T, Ogata M, Kawasaki C, Ogata J, Inoue Y, Shigematsu A. Ketamine suppresses proinflammatory cytokine production in human whole blood in vitro. Anesth Analg. 1999; 89(3):665-9.
- 8- Arai KI, Lee F, Miyajima A, Miyatake S, Arai N, Yokota T. Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses. Annu Rev Biochem. 1990;59:783-836.
- 9- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Hücre zedelenmesi adaptasyonu ve ölümü. Çevikbaş U (Ed.). Robbins Temel Patoloji 7th ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2003. s.3-9
- 10- Taşkıran A, Eskiocak S, Çıkırıkçioğlu M. Koroner arter bypass cerrahisi öncesindeki plazma total antioksidan kapasite düzeylerinin iskemi-reperfüzyon hasarı ile ilişkisi. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2005; 22: 16-22.
- 11- Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischemia and reperfusion injury. Br Med Bull. 2004;70:71-86.
- 12- Rangan U, Bulkley GB. Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury. Br Med Bull. 1993; 49:700-18.
- 13- Newmeyer DD, Ferguson-Miller S. Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death. Cell. 2003;112:481-90.
- 14- Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. Microsurgery. 2004; 24: 468-75.
- 15- Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. J Pathol. 2000;190:255-66.

- 16-** Tassiopoulos AK, Carlin RE, Pedoto A, et al. Role of nitric oxide and tumor necrosis factor on lung injury caused by ischemia-reperfusion of the lower extremities. *J Vasc Surg* 1997;26:647-65
- 17-** Brady HR, Brenner BM. "Chronic renal failure". In Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, et al.. *Harrison's Principles of Internal Medicine* (16th ed.). New York, NY: McGraw-Hill. 2005;1644–53
- 18-** Lameire NH, Vanholder R. Pathophysiology of ischaemic acute renal failure. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2004; 18(1):21-36.
- 19-** Ichikawa I, Kiyama S, Yoshioka T. Renal Antioxidant Enzymes: Their Regulation and Function. *Kidney Int.* 1994; 45(1): 1-9.
- 20-** *Anatomi Ders Kitabı Prof.Dr.Veli Odar. 2.Cilt Hacettepe Taş Kitapçılık* 1986; 235-55.
- 21-** Guyton AC, Hall JE. Urine formation by the kidneys: I.Glomerular filtration, renal blood flow and their control: textbook of Medical Physiology. Dokuzuncu baskı. WB Saunders Company Philadelphia, Pennsylvania 1996; 315-30.
- 22-** Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Urinary System Basic Histology. Yedinci baskı. Appleton&Lange, Lebanon 1992; 371-93.
- 23-** Lance DD, Brenner BM. The renal circulation in: *The Kidney.* WB Saunders Company, Philadelphia 1996;Sayfa 247-86
- 24-** Navar LG, Carmine PK, Mitchell KD. Renal circulation in: *Text book of nephrology.* Williams&Wilkins Baltimore 1995;Sayfa 41-54
- 25-** Estebe JP, Davies JM, Richebe P. The pneumatic tourniquet: mechanical, ischaemia-reperfusion and systemic effects. *Eur J Anaesthesiol.* 2011; 28(6):404-11.
- 26-** Erdine S. Rejyonel Anestezi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2005, 1-44;104-8.
- 27-** Klenerman L. The tourniquet in surgery. *J Bone Joint Surg* 1962; 44-B: 937-43.
- 28-** Younger AS, McEwen JA, Inkpen K. Wide contoured thigh cuffs and automated limb occlusion measurement allow lower tourniquet pressures. *Clin Orthop Relat Res* 2004; 428:286–93.
- 29-** Graham B, Breault MJ, McEwen JA, et al. Occlusion of arterial flow in the extremities at subsystolic pressures through the use of wide tourniquets cuffs. *Clin Orthop Relat Res* 1993; 286:257–61.
- 30-** Klenerman L, Hulands GH. Tourniquet pressure for the lower limb. *J Bone Joint Surg.* 1979; 61-B: 124-8.



- 31-** Pedowitz RA, Gershuni DH, Schmid AH, et al. Muscle injury induced beneath and distal a pneumatic tourniquet: A quantitative study of tourniquet pressure and duration. *J Hand Surg.* 1991; 16-A: 610-21.
- 32-** Konrad G, Markmiller M, Lenich A, et al. Tourniquets may increase postoperative swelling and pain after internal fixation of ankle fractures. *Clin Orthop Relat Res* 2005; 433:189–94.
- 33-** Duffy PJ. *The Arterial Tourniquet. The global textbook of anesthesiology Ontario: The Ottawa Hospital;* 2000, 1-19.
- 34-** Gupta K, Aggarwal N, Rao M, et al. Re-emphasizing the importance of tourniquet time: severe myocardial depression following tourniquet deflation. *Acta Anaesthesiol Scand* 2008; 52:873-4.
- 35-** McGrath BJ, Hsia J, Boyd A, et al. Venous embolization after deflation of lower extremity tourniquets. *Anesth Analg* 1994; 78:349–53.
- 36-** Wilgis EFS. Observations on the effect of tourniquet ischemia. *J Bone Joint Surgery* 1971; 53(a): 1343-6.
- 37-** Crews JC, Hilgenhurst G, Leavitt B, et al. Tourniquet pain: the response to the maintenance of tourniquet inflation on the upper extremity of volunteers. *Regional Anesthesia* 1991; 16: 314-7.
- 38-** Honda HM, Korge P, Weiss JN. Mitochondria and ischemia/reperfusion injury. *Ann NY Acad Sci* 2005; 1047:248–58.
- 39-** Cynthia LH, Brian WC, et al. A North American survey of intravenous regional anesthesia. *Anesth & Analg* 1997; 85: 858-63.
- 40-** Estebe JB, Le Naoures A, Chemaly L. Tourniquet pain in a volunteer study: effect of changes in cuff with and pressure. *Anesthesia* 2000; 55(1): 21-6.
- 41-** Ostman B, Michaelsson K, Rahme H, et al. Tourniquet-induced ischemia and reperfusion in human skeletal muscle. *Clin Orthop Relat Res* 2004; 418:260–5.
- 42-** Sparling RJ, Murray AW, Choksey M. Raised intracranial pressure associated with hypercarbia after tourniquet release. *Br J Neurosurg* 1993; 7:75–7.
- 43-** Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. *Free Rad Res.* 1998; 28:672-8
- 44-** Dormandy Tl. An approach to free radicals. *Lancet* 1983;2:1010-14.
- 45-** Erden M. Serbest Radikaller. *T Klin Tip Bilimleri Journal of Medical Sciences.* 1992; 12: 201-7.

- 46-** Jensen SJK. Oxidative stress and free radicals. *Journal of Molecular Structure (Theochem)*. 2003; 666: 387-92
- 47-** Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp dergisi*, 2002; 33:110-18.
- 48-** Ceballos L, Triver JM, Nicole A. Age correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *J Clin Chem*. 1992; 36:66–70.
- 49-** Yamamoto Y. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. *Journal of Dermatological Science*, 2001; 27:1-4.
- 50-** Yao JK, Reddy R, McElhinny LG. Reduced status of plasma total antioxidant capacity in schizophrenia. *Schizophr Res*. 1998; 32: 1-8.
- 51-** Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*. 2004; 37: 112-9.
- 52-** Ghiselli A, Serafini M, Natella F. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med*. 2000; 29: 1106-14.
- 53-** Harma M, Erel O: Oxidative stress in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2005; 192: 656-7.
- 54-** Erol MK. Yoğun bakım hastalarında propofol, deksmedetomidin ve midazolam infüzyonlarının sedasyon, oksidan – antioksidan sistem üzerine etkilerinin karşılaştırılması. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi. Şanlıurfa 2011.
- 55-** al-Gaby AM. Amino acid composition and biological effects of supplementing broad bean and corn proteins with *Nigella sativa* (black cumin) cake protein. *Nahrung*. 1998; 42(5):290-4.
- 56-** Al-Ghamdi MS. The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*. *J Ethnopharmacol*. 2001 Jun;76(1):45-8.
- 57-** Al-Jassir MS. Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia. *Food Chemistry*. 1992; 45: 239-42.
- 58-** Nergiz C, Otles S. Chemical composition of *Nigella sativa* L. *Food Chemistry*. 1993; 48: 259-61.
- 59-** Atta MB. Some characteristics of nigella (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry*. 2003; 83: 63-8.
- 60-** Sayed MD. Traditional medicine in health care. *Journal of Ethnopharmacology*. 1980; 2: 19-22.

- 61-** Atta-ur-Rahman, Malik S, Hasan SS, Choudhary MI, Ni C, Clardy J. Nigellidine. A new indazole alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Tetrahedron Letters*. 1995; 36: 1993-6.
- 62-** Mehta BK, Mehta P, Gupta M. A new naturally acetylated triterpene saponin from *Nigella sativa*. *Carbohydr Res*. 2009 Jan 5;344(1):149-51
- 63-** Hosseinzadeh H, Parvardeh S. Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice. *Phytomedicine*. 2004;11(1):56-64.
- 64-** Shoieb AM, Elgayyar M, Dudrick PS, Bell JL, Tithof PK. In vitro inhibition of growth and induction of apoptosis in cancer cell lines by thymoquinone. *Int J Oncol*. 2003; 22:107-13.
- 65-** Gali-Muhtasib H, Kuester D, Mawrin C, et al. Thymoquinone triggers inactivation of the stress response pathway sensor CHEK1 and contributes to apoptosis in colorectal cancer cells. *Cancer Res*. 2008;68(14):5609-18.
- 66-** Worthen DR, Ghosheh OA, Crooks PA. The in vitro anti-tumor activity of some crude and purified components of blackseed, *Nigella sativa* L. *Anticancer Res*.1998; 18(3A):1527-32.
- 67-** Roepke M, Diestel A, Bajbouj K, Walluscheck D, Schonfeld P, Roessner A, Schneider-Stock R, Gali-Muhtasib H. Lack of p53 augments thymoquinone-induced apoptosis and caspase activation in human osteosarcoma cells. *Cancer Biol Ther*. 2007; 6(2):160-9.
- 68-** Kaseb AO, Chinnakannu K, Chen D, Sivanandam A, Tejwani S, Menon M, Dou QP, Reddy GP. Androgen receptor and E2F-1 targeted thymoquinone therapy for hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Res*. 2007 Aug 15;67(16):7782-8.
- 69-** Kruk I, Michalska T, Lichszteid K, Kładna A, Aboul-Enein HY. The effect of thymol and its derivatives on reactions generating reactive oxygen species. *Chemosphere*. 2000; 41:1059-64.
- 70-** Badary OA, Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Hamada FM. The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology*. 2000; 143(3):219-26.
- 71-** Mohamed A, Shoker A, Bendjelloul F, Mare A, Alzrigh M, Benghuzzi H, Desin T. Improvement of experimental allergic encephalomyelitis (EAE) by thymoquinone; an oxidative stress inhibitor. *Biomed Sci Instrum*. 2003;39:440-5.
- 72-** Ragheb A, Attia A, Eldin WS, Elbarbry F, Gazarin S, Shoker A. The protective effect of thymoquinone, an anti-oxidant and anti-inflammatory agent, against renal injury: a review. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2009; 20:741-52.
- 73-** Aantaa R, Scheinin M. Alpha 2-adrenergic agents in anaesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1993;37(5):433-8.

- 74-** Gertler R, Brown HC, Mitchell DH, Silvius EN. Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 2001 Jan;14(1):13-21.
- 75-** Mantz J. Dexmedetomidine. *Drugs Today (Barc)*. 1999;35(3):151-7.
- 76-** Dyck JB, Maze M, Haack C, et al. The pharmacokinetics and hemodynamic effects of intravenous and intramuscular dexmedetomidine hydrochloride in adult human volunteers. *Anesthesiology* 1993; 78: 813-20.
- 77-** Scheinin H, Aantaa R, Anttila M, et al. Reversal of the sedative and sympatholytic effects of dexmedetomidine with a specific alpha-2- adrenoceptor antagonist atipamezole: a pharmacodynamic and kinetic study in healthy volunteers. *Anesthesiology* 1998; 89: 574-84
- 78-** Aho M, Erkola O, Kallio A, et al. Dexmedetomidine infusion for maintenance of anaesthesia in patients undergoing abdominal hysterectomy. *Anesth Analg* 1992; 75: 940-6
- 79-** Yassin MM, Harkin DW, Barros D'Sa AA, Halliday MI, Rowlands BJ. Lower limb ischemia-reperfusion injury triggers a systemic inflammatory response and multiple organ dysfunction. *World J Surg*. 2002; 26:115-21.
- 80-** Solez K, Racusen LC. Role of the renal biopsy in acute renal failure. *Contrib Nephrol*. 2001;(132):68-75.
- 81-** Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005; 38:1103-11.
- 82-** Harma M, Kocyigit A, Erel O. Increased DNA damage in patients with complete hydatidiform mole. *Mutat Res*. 2005;5:49-54.
- 83-** Ozcan AV, Sacar M, Aybek H, Bir F, Demir S, Onem G, Goksin I, Baltalarli A, Colakoglu N. The effects of iloprost and vitamin C on kidney as a remote organ after ischemia/reperfusion of lower extremities. *J Surg Res*. 2007;140(1):20-6.
- 84-** Nickenig G, Strehlow K, Bäumer AT, Baudler S, Wassmann S, Sauer H, Böhm M. Negative feedback regulation of reactive oxygen species on AT1 receptor gene expression. *Br J Pharmacol*. 2000;131:795-803.
- 85-** Scheuer H, Gwinner W, Hohbach J, Gröne EF, Brandes RP, Malle E, Olbricht CJ, Walli AK, Gröne HJ. Oxidant stress in hyperlipidemia-induced renal damage. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2000; 278(1):F63-74.
- 86-** Galle J. [Atherosclerosis and arteriitis: implications for therapy of cardiovascular disease]. *Herz*. 2004; 29(1):4-11.
- 87-** Sun K, Kiss E, Bedke J, Stojanovic T, Li Y, Gwinner W, Gröne HJ. Role of xanthine oxidoreductase in experimental acute renal-allograft rejection. *Transplantation*. 2004 Jun 15;77(11):1683-92.

- 88-** Chander V, Chopra K. Molsidomine, a nitric oxide donor and L-arginine protects against rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure. *Biochim Biophys Acta*. 2005 25;1723(1-3):208-14.
- 89-** Tahara M, Nakayama M, Jin MB, Fujita M, Suzuki T, Taniguchi M, Shimamura T, Furukawa H, Todo S. A radical scavenger, edaravone, protects canine kidneys from ischemia-reperfusion injury after 72 hours of cold preservation and autotransplantation. *Transplantation*. 2005;80(2):213-21.
- 90-** Himmelfarb J, McMonagle E, Freedman S, Klenzak J, McMenamin E, Le P, Pupim LB, Ikizler TA, The PICARD Group. Oxidative stress is increased in critically ill patients with acute renal failure. *J Am Soc Nephrol*. 2004 Sep;15(9):2449-56.
- 91-** Enkaya I, Ökten B, Saba D, Güven H, Dirican M, Serdar Z, Tolunay Ş, Özer Z. İskelet kası iskemi reperfüzyon hasarının azaltılmasında tiklopidin. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi* 1999;7:405-10
- 92-** Shimizu MH, Coimbra TM, de Araujo M, Menezes LF, Seguro AC. N-acetylcysteine attenuates the progression of chronic renal failure. *Kidney Int*. 2005 Nov;68(5):2208-17.
- 93-** Onozato ML, Tojo A, Goto A, Fujita T, Wilcox CS. Oxidative stress and nitric oxide synthase in rat diabetic nephropathy: effects of ACEI and ARB. *Kidney Int*. 2002;61(1):186-94.
- 94-** Chiarelli F, Santilli F, Sabatino G, Blasetti A, Tumini S, Cipollone F, Mezzetti A, Verrotti A. Effects of vitamin E supplementation on intracellular antioxidant enzyme production in adolescents with type 1 diabetes and early microangiopathy. *Pediatr Res*. 2004; 56(5):720-5.
- 95-** Avcı G, Kadioglu H, Sehirli AO, Bozkurt S, Gudu O, Arslan E, Muratli SK. Curcumin Protects Against Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Skeletal Muscle. *J Surg Res* 2012; 172;39-46.
- 96-** Kocoglu H, Ozturk H, Ozturk H, Yılmaz F, Gulcu H. Effect of Dexmedetomidine on Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Kidney: A Histopathologic Study. *Renal Failure*. 2009; 31(1):70-4
- 97-** Hammad FT, Al-Salam S, Lubbad L. Curcumin provides incomplete protection of the kidney in ischemia reperfusion injury. *Physiol Res* 2012; 61:503-11
- 98-** Tran TP, Tu H, Pipinos II, Muelleman RL, Albadawi H, Li YL. Tourniquet-induced acute ischemia-reperfusion injury in mouse skeletal muscles: Involvement of superoxide. *Eur J Pharmacol*. 2011;650(1):328-34.
- 99-** Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in rat. *J Clin Invest* 1984;74:1156-64
- 100-** Sobhani R, Masoudpour H, Akbari M, Suzangar HR, AleSaeidio S, Adibi S, Khademi SA, Khademi EF, Sobhani F. The histobiochemical effects of melatonin on ischemia reperfusion-related injuries in vascular trauma of lower limbs. *Ann Ital Chir*. 2012; 83:49-54.

- 101-** Zhao LJ, Men XL, Kong XY, Li HJ, Zhao X, Zhang LY. Preventive effects of salvia miltiorrhiza on multiple organ edema in the rats of limb ischemia/reperfusion. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi*. 2012;28(3):281-3.
- 102-** Kaplan N, Yagmurdur H, Kilinc K, et al. The protective effects of intravenous anesthetics and verapamil in gut ischemia/reperfusion-induced liver injury. *Anesth Analg* 2007;105:1371-2
- 103-** Hanci V, Erol B, Bektas, S, et al. Effect of dexmedetomidine on testicular torsion/detorsion damage in rats. *Urol Int* 2010; 84:105.
- 104-** Inci F, Doğan IV, Eti Z, et al. The effects of dexmedetomidine infusion on the formation of reactive oxygen species during mesenteric ischemia-reperfusion injury in rats. *Marmara Medical Journal* 2007;20:154-5
- 105-** Gu J, Chen J, Xia P, Tao G, Zhao H, Ma D. Dexmedetomidine attenuates remote lung injury induced by renal ischemia-reperfusion in mice. *Acta AnaesthesiolScand*. 2011; 55:1272-8.
- 106-** Curtis FG, Vianna P T G, Viero RM. Dexmedetomidine and S(+)-ketamine in ischemia and reperfusion injury in the rat kidney. *Acta Cirurgica Brasileria* 2011; 26: 202-6
- 107-** Kılıç K, Hancı V, Selek S, Sözmen M, Kiliç N, Cıtil M, Yurtlu DA, Yurtlu BS. The effects of dexmedetomidine on mesenteric arterial occlusion-associated gut ischemia and reperfusion-induced gut and kidney injury in rabbits. *J Surg Res*. 2012;178(1):223-32
- 108-** Sahin T, Begeç Z, Toprak HI, Polat A, Vardi N, Yücel A, Durmuş M, Ersoy MO. The effects of dexmedetomidine on liver ischemia-reperfusion injury in rats. *J Surg Res*. 2012; 8. doi:prii: S0022-4804(12)01908-7. 10.1016/j.jss.2012.11.034. [Epub ahead of print]
- 109-** Tüfek A, Tokgöz O, Aliosmanoglu I, Alabalik U, Evliyaoglu O, Ciftçi T, Güzel A, Yıldırım ZB. The protective effects of dexmedetomidine on the liver and remote organs against hepatic ischemia reperfusion injury in rats. *Int J Surg*. 2013;11(1):96-100.
- 110-** Yagmurdur H, Ozcan N, Dokumaci F, Kilinc K, Yilmaz F, Basar H. Dexmedetomidine reduces the ischemia-reperfusion injury markers during upper extremity surgery with tourniquet. *J Hand Surg Am*. 2008 Jul-Aug;33(6):941-7
- 111-** Gu J, Sun P, Zhao H, Watts HR, Sanders RD, Terrando N, Xia P, Maze M, Ma D. Dexmedetomidine provides renoprotection against ischemia-reperfusion injury in mice. *Crit Care*. 2011 Jun 24;15(3):R153.
- 112-** Uysal HY, Cuzdan SS, Kayıran O, Başar H, Fidancı V, Afyoncu E, Üstün H, Gülbahçe R. Preventive effect of dexmedetomidine in ischemia-reperfusion injury. *J Craniofac Surg*. 2012; 23(5):1287-91.
- 113-** Kurt A, Ingec M, Isaoglu U, Yilmaz M, Cetin N, Calik M, Polat B, Akcay F, Gundogdu C, Suleyman H. An investigation about the inhibition of acute ischemia/reperfusion damage

by dexmedetomidine in rat ovarian tissue. *Gynecol Endocrinol.* 2012 Dec 11. [Epub ahead of print]

**114-** Jolkkonen J, Puurunen K, Koistinaho J, et al. Neuroprotection by the alpha2-adrenoceptor agonist, dexmedetomidine, in rat focal cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol* 1999;372:31.

**115-** Memis D, Hekimoglu S, Vatan I, et al. Effects of midazolam and dexmedetomidine on inflammatory responses and gastric intramucosal pH to sepsis, in critically ill patients. *Br J Anaesth* 2007;98:550.

**116-** Inci M, Davarci M, Inci M, Motor S, Yalcinkaya F, Nacar E, Aydin M, Sefil N, Zararsiz I. Anti-inflammatory and antioxidant activity of thymoquinone in a rat model of acute bacterial prostatitis. *Hum Exp Toxicol.* 2012 Aug 7. [Epub ahead of print]

**117-** Kanter M, Coskun O, Uysal H. The antioxidative and antihistaminic effect of *Nigella sativa* and its major constituent, thymoquinone on ethanol-induced gastric mucosal damage. *Arch Toxicol.* 2006 Apr;80(4):217-24.

**118-** Nagi MN, Alam K, Badary OA, al-Shabanah OA, al-Sawaf HA, al-Bekairi AM. Thymoquinone protects against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice via an antioxidant mechanism. *Biochem Mol Biol Int.* 1999 Jan;47(1):153-9.

**119-** Mansour MA, Ginawi OT, El-Hadiyah T, El-Khatib AS, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA. Effects of volatile oil constituents of *Nigella sativa* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice: evidence for antioxidant effects of thymoquinone. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 2001;110(3-4):239-51.

**120-** Al-Ali A, Alkhawajah AA, Randhawa MA, Shaikh NA. Oral and intraperitoneal LD50 of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa*, in mice and rats. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2008; 20(2):25-7.

**121-** Engelhard K, Werner C, Eberspächer E, Bachl M, Blobner M, Hildt E, Hutzler P, Kochs E. The effect of the alpha 2-agonist dexmedetomidine and the N-methyl-D-aspartate antagonist S(+)-ketamine on the expression of apoptosis-regulating proteins after incomplete cerebral ischemia and reperfusion in rats. *Anesth Analg.* 2003 Feb;96(2):524-31

**122-** Hosseinzadeh H, Parvardeh S, Asl MN, Sadeghnia HR, Ziaee T. Effect of thymoquinone and *Nigella sativa* seeds oil on lipid peroxidation level during global cerebral ischemia-reperfusion injury in rat hippocampus. *Phytomedicine.* 2007 Sep;14(9):621-7.

**123-** Al-Majed AA, Al-Omar FA, Nagi MN. Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus. *Eur J Pharmacol.* 2006;543(1-3):40-7.

**124-** Yildiz F, Coban S, Terzi A, Ates M, Aksoy N, Cakir H, Ocak AR, Bitiren M. *Nigella sativa* relieves the deleterious effects of ischemia reperfusion injury on liver. *World J Gastroenterol.* 2008 Sep 7;14(33):5204-9.

- 125-** Awad AS, Kamel R, Sherief MA. Effect of thymoquinone on hepatorenal dysfunction and alteration of CYP3A1 and spermidine/spermine N-1-acetyl-transferase gene expression induced by renal ischaemia-reperfusion in rats. *J Pharm Pharmacol.* 2011;63(8):1037-42.
- 126-** Yildiz F, Coban S, Terzi A, Savas M, Bitiren M, Celik H, Aksoy N. Protective effects of *Nigella sativa* against ischemia-reperfusion injury of kidneys. *Ren Fail.* 2010;32(1):126-31
- 127-** Kanter M. Protective effects of thymoquinone on streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *J Mol Histol.* 2009 Apr;40(2):107-15.
- 128-** Nishino Y, Takemura S, Minamiyama Y, Hirohashi K, Ogino T, Inoue M, Okada S, Kinoshita H. Targeting superoxide dismutase to renal proximal tubule cells attenuates vancomycin-induced nephrotoxicity in rats. *Free Radic Res.* 2003;37(4):373-9.
- 129-** Badary OA. Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice. *J Ethnopharmacol.* 1999;67(2):135-42.
- 130-** Nath KA, Croatt AJ, Likely S, Behrens TW, Warden D. Renal oxidant injury and oxidant response induced by mercury. *Kidney Int* 1996;50:1032–43.
- 131-** Fouda AM, Daba MH, Dahab GM, Sharaf El-Din OA. Thymoquinone ameliorates renal oxidative damage and proliferative response induced by mercuric chloride in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2008 Aug;103(2):109-18.
- 132-** Hosseinzadeh H, Taiari S, Nassiri-Asl M. Effect of thymoquinone, a constituent of *Nigella sativa* L., on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2012; 385:503-8.
- 133-** Badary OA, Taha RA, Gamal el-Din AM, Abdel-Wahab MH. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug Chem Toxicol* 2003;26:87–98.
- 134-** Mansour M, Tornhamre S. Inhibition of 5-lipoxygenase and leukotriene C4 synthase in human blood cells by thymoquinone. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2004;19(5):431-6.