

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

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

UZMANLIK TEZİ

Dr. MAHMUT ALP KARAHAN

DANIŞMAN

Yrd. Doç.Dr. ŞABAN YALÇIN

ŞANLIURFA

2013

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

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

UZMANLIK TEZİ

Dr. MAHMUT ALP KARAHAN

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. ŞABAN YALÇIN

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Kurulu (HÜBAK) tarafından
12082 proje numarası ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana emeği geçen ve her zaman olduğu gibi bu çalışma sırasında desteklerini eksik etmeyen başta değerli hocam ve tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Şaban Yalçın'a ayrıca hocalarım Yrd. Doç. Dr. Harun Aydoğan'a, Yrd. Doç.Dr. Hasan Hüsnü Yüce'ye, Yrd. Doç.Dr. Ahmet Küçük'e ve Yrd. Doç.Dr. Nuray Altay'a,

Yine bu çalışma sırasında emeklerini ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Nurten Aksoy'a, Doç.Dr. Alpaslan Terzi'ye, Yrd. Doç.Dr. Sezen Koçaslan'a, Öğr. Gör. Dr. Abdullah Taşkın'a, Halil Badem'e,

Çalışmalarım ve uzmanlık eğitimim süresi boyunca beraber çalıştığım Arş. Gör. Dr. Tekin Bilgiç'e, Arş. Gör. Dr. Evren Büyükfırat'a, Arş. Gör. Dr. İnanç Havlioğlu'na, Arş. Gör. Dr. Hüseyin Sert'e, Arş. Gör. Dr. Maruf Sürücü'ye, Arş. Gör. Dr. Zeliha Ayhan'a ve Arş. Gör. Dr. Bülent Ayhan'a,

Anestezi teknikeri arkadaşlarıma, ameliyathane, yoğun bakım, gündüz hastanesi hemşire ve personeli ile bölüm sekreterlerine ve tanıma fırsatı bulduğum tüm hastane çalışanlarına,

Araştırma görevliliğimin her aşamasında resmi yazışmalar ve birçok konumda, engin bilgi birikimi ve tecrübeleriyle bizlere yardımcı olan, değerli personel şubesi çalışanlarından Murad Alkan, Mehmet Yüksekayla ve Tevrat Zeray'a,

Hayatım boyunca benden desteğini, sevgisini ve sabrını esirgemeyen aileme ve bugünlere kadar gelmemde emeği geçen, burada adını anamadığım herkese,

Uzmanlık eğitimim süresince her türlü sıkıntımı paylaşan, büyük bir özveriyle bana destek olan Eşime ve Kızıma,

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr. Mahmut Alp KARAHAN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
KISALTMALAR	iii
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
RESİM LİSTESİ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	x
GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.GENEL BİLGİLER	3
1.1 Turnikenin Gelişimi ve Etkileri	3
1.2. İskemi	7
1.3.Reperfüzyon	12
1.4. İskemi Reperfüzyon Hasarı Mekanizmaları	13
1.5. Ekstremitte İskemi Reperfüzyon Fiziopatolojisi ve Uzak Organ Hasarı	20
1.6.Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları	22
1.7.Böbrek	25
1.8.Deksmedetomidin	28
1.9.Curcumin	37
2.MATERYAL METOD	45
3.BULGULAR	49
4.TARTIŞMA	52
5.SONUÇ VE ÖNERİLER	59
5.KAYNAKLAR	60

KISALTMALAR

ADP	Adenozin Difosfat
AMP	Adenozin Monofosfat
AOP	Arteryel Oklüzyon Basıncı
ATP	Adenozin trifosfat
CGMP	Sıkkık guanozine monofosfat
COX	Sıkklo oksijenaz
CUR	Curcumin
CUR-DEX	Curcumin-Deksmedetomidin
DEX	Deksmedetomidin
DNA	Deoksiribonükleik asit
DVT	Derin Ven Tromboz
EM	Elektron Mikroskopu
FN	Fibronektin
GER	Granüllü Endoplazmik Retikulum
GFR	Glomerüler Filtrasyon Hızı
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GST	Glutasyon S transferaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HHS	Histopatolojik Hasar Skorlaması
HO-	Hidroksil
ICAM-1	İntraselüler adhezyon molekülü 1
İL-8	İnterlökin 8

İ/R	İskemi-Reperfüzyon
LTB4	Lökotrien B4
MDA	Malondialdehit
MPO	Myeloperoksidaz
NADH	Nikotinamid dehidrogenaz
NOS	Nitrik Oksit Sentetaz
O ₂ -	Süperoksit
OONO-	Peroksinitrit
OSİ	Oksidatif Stres İndeksi
PAF	Platelet aktive edici Faktör
ROO	Peroksil Radikali
RS-	Thiyl radikalleri
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
SSS	Santral Sinir Sistemi
SVB	Santral Venöz Basınç
TAS	Total Antioksidan Seviye
TLR-4	Toll-Like reseptör 4
TNF- α	Tumör Nekrozis Faktör alfa
TOS	Total Oksidan Seviye
XD	Ksantin Dehidrogenaz
XO	Ksantin Oksidaz

TABLO LİSTESİ

Tablo1. Serbest oksijen radikalleri ve oksijen bileşikleri	14
Tablo2. Gruplar Arası TAS, TOS, OSİ ve Histopatolojik Hasar Skorları Karşılaştırılması	49

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Ksantin-hipoksantin metabolizması ve serbest oksijen radikal oluşum şeması	9
Şekil 2. Hücre zedelenmesinde Ca ²⁺ un rolü ve hücre zedelenmesi	12
Şekil 3. A) α_2 - adreseptör agonist reseptörlerinin fizyolojisi	
B) Alfa-1 ve alfa - 2 adreseptörlerin şematik görünümü	30
Şekil 4. α_2 -adrenerjik reseptörlerin aracılık ettiği cevaplar	31
Şekil 5. Deksmetomidin kimyasal yapısı	32
Şekil 6. Curcumin ve bileşikleri	39
Şekil 7. Curcuminin araşidonik kaskadı üzerine inhibitör etkisini gösteren şema	41
Şekil 8. Curcuminin inflamator medyatörler üzerine etkileri	42
Şekil 9. Curcuminin karsinogenesizin hücrel medyatörleri üzerine etkisi	44

RESİM LİSTESİ

Resim 1. A. Curcuma longa bitki hali; B. Taze köksapı ve C. Kurutulmuş toz hali	38
Resim 2. SHAM grubu Böbrek histopatolojik incelenmesi	51
Resim 3. Kontrol grubu Böbrek histopatolojik incelenmesi	51
Resim 4. Dex grubu böbrek Histopatolojik incelenmesi	51
Resim 5. Curcumin grubu böbrek Histopatolojik incelenmesi	51
Resim 6. Cur/dex grubu böbrek Histopatolojik incelenmesi	53

ÖZET

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

Dr.Mahmut Alp KARAHAN

Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Amaç: Bu çalışmada alt ekstremitelerde iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan ratlarda dexmedetomidin ve Curcumin'in böbrek ve oksidatif stres üzerine etkilerini karşılaştırmayı amaçlandı.

Metod: Wistar albino ratlarda anestezi verilmesini takiben sol alt ekstremiteye 4 saat iskemi ve 2 saat reperfüzyon uygulandı. Çalışmaya, her birinde 10 denek bulunan 5 grup dahil edildi. Denekler Grup 1 (Sham, n=10), Grup 2 (kontrol, n=10), Grup 3 (200 mg/kg, Curcumin n=10) Grup 4 (25 µg/kg Deksmetedomidin, n=10) ve Grup 5 (200 mg/kg Curcumin ve 25 µg/kg Deksmetedomidin n:10) gruplarına ayrıldı. Curcumin ve dekmedetomidin 4 saat'lik iskemi ardından reperfüzyondan 5 dakika önce intraperitoneal olarak uygulandı. Reperfüzyon dönemi bitiminde kan ve böbrek alınarak histopatolojik değerlendirme ile Total antioksidan seviye (TAS) , Total antioksidan seviye (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) değerleri incelendi.

Bulgular: TAS değerleri hesaplandığında en düşük değer kontrol grubunda (0.08 ± 0.02 mmolTroloksEqv./L) olduğu en yüksek değer ise CUR-DEX grubunda (0.33 ± 0.10 mmolTroloksEqv./L) olduğu saptandı. Sham, CUR, CUR-DEX Gruplarında Kontrol ve DEX grubuna göre TAS seviyesi anlamlı olarak yüksek tespit edildi ($p < 0.03$) . TOS değerleri incelendiğinde en düşük değer Sham grubunda (20.10 ± 4.48 µmolH₂O₂Eqv./L) olduğu en yüksek değer ise Kontrol grubunda (31.55 ± 8.13 µmolH₂O₂Eqv./L) olduğu saptandı. TOS gruplar arasında kıyaslandığında; Kontrol, DEX ve CUR-DEX gruplarında Sham grubuna göre TOS seviyesi anlamlı olarak yüksek tespit edildi ($p < 0.03$) . OSİ değerleri hesaplandığında ise en düşük değer Sham grubunda (6.36 ± 2.14 AU) olduğu en yüksek değer ise Kontrol grubunda (40.89 ± 18.03 AU) olduğu tespit edildi. Kontrol ve DEX

grupları CUR ve CUR-DEX Grubuna göre OSİ seviyesi anlamlı olarak yüksek tespit edildi. ($P<0.03$). Histopatolojik hasar skorlamasının (HHS) en düşük değerinin Sham grubunda (2.5 ± 0.70) olduğu en yüksek değer ise Kontrol grubunda (4.5 ± 0.70) olduğu saptandı. Sham, CUR, DEX, CUR-DEX grupları Kontrol grubuna göre histopatoloji hasar skoru anlamlı olarak düşük tespit edildi ($p<0.01$).

Sonuç: Alt ekstremitte iskemi-reperfüzyon hasarında böbreklerde belirgin histopatolojik değişiklikler ortaya çıkar. Curcumin ve Deksmetomidin, böbrekler üzerinde iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesinde koruyucu etkiye sahiptirler. Curcuminin bu etkisinin antioksidan özelliğine bağlı olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: İskemi, Reperfüzyon, Oksidatif Stres, Deksmetomidin, Curcumin

ABSTRACT

EVALUATION OF EFFECTS OF DEXMEDETOMIDINE AND CURCUMIN ON KIDNEY IN LOWER EXTREMITY ISCHEMIA - REPERFUSIONS INJURY IN RATS

Dr.Mahmut Alp KARAHAN

Department of Anesthesiology and Reanimation Thesis of Speciality in Medicine

Background: In this study we aimed to compare effects of dexmedetomidin and curcumin on kidney and oxidative stress in lower extremity ischemia-reperusions injury of rats.

Materials and Methods : Wistar rats were anesthetized and submitted to ischemia of left lower limb for 4 h. After 4 h of unilateral lower limb ischemia, tourniquets were released and the extremity reperfused for 2 h. Five groups of rats consisting of 10 subjets were included in the study. Animals were divided into Group 1 (Sham, n=10), Group 2 (control, n=10), Group 3 (200 mg/kg curcumin, n=10), Group 4 (25 µg/kg Dexmetedomidine, n=10) and Group 5 (200 mg/kg Curcumin ve 25 µg/kg Dexmetedomidine).

Curcumin and Dexmetedomidine was administered intraperitoneally immediately after the end of 4 h ischemia and 5 minute before start of reperfusion. After reperfusion, blood samples were taken and TAS, TOS, OSI measurements were analyzed. Finally, kidney samples from rats were examined histopathologically.

Results: TAS values measured and the control group were found to be the lowest value (0.08 ± 0.02 EqvmmolTroloks. / L) and CUR-DEX group was found to be the highest value (0.33 ± 0.10 Eqvmmol Troloks. / L) . TAS level in the Sham, CUR and CUR-DEX groups are significantly higher than the control and DEX groups ($p < 0.03$). TOS values measured and the sham group were found to be the lowest value ($20:10 \pm 4:48$ µmolH₂O₂Eqv. / L) and the control group was found to be the highest value (31.55 ± 8.13 µmolH₂O₂Eqv. / L) . TOS were compared to the groups. TOS levels of Control, CUR-DEX, DEX was significantly higher than in the sham group ($p < 0.03$). OSI is calculated, the value of the lowest were found

in the sham group (6.36 ± 2.14 AU). The maximum value were found in the control group ($40.89 \pm 18:03$ AU). Control and DEX groups according to CUR and CUR-DEX group were significantly higher than the level of OSI. ($P < 0.03$). The lowest value of Histopathological damage scoring (HHS) was the sham group (2.5 ± 0.70) and the highest value was in the control group (4.5 ± 0.70). Sham, CUR, DEX, CUR-DEX groups compared to the control group were significantly lower histopathologic injury score ($p < 0.01$).

Conclusion: In conclusion, we showed that ischemia-reperfusion causes histopathological changes in kidney. Curcumin and dexmedetomidine has a protective effect on renal tissues ischemia-reperfusion injury. This effect might be due to the antioxidant properties of Curcumin.

Key Words: Ischaemia, Reperfusion, Oxidative Stress, Dexmedetomidine, Curcumin

GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi, bir dokuya ya da organa gelen kan akımının azalması veya durması ile oluşan atık ürünlerin yine dolaşım tarafından uzaklaştırılamaması olarak tanımlanır. Reperfüzyon ise, enerji ihtiyacının karşılanması ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması için dokuya ya da organa tekrar kan akımının sağlanması olayıdır. İskemiye uğrayan hücre ve dokular aerobik metabolizma sağlayamadıkları için anaerobik metabolizma yoluyla gerekli enerjiyi sağlamaya çalışırlar. Anaerobik metabolizma sonucu oluşan metabolitler doku perfüzyonu olmadığından dokuda birikir, kan akımının normale döndürülmesiyle (reperfüzyonla) buradaki metabolitlerin oksidasyonu sonucu oluşan maddeler dolaşıma karışır ve kan ile tüm vücuda yayılırlar (1).

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. Reaktif oksiradikaller birçok kaynaktan salınabilirler, bunlar arasında en önemli olanı reperfüzyon esnasında dokuya gelen aktive olmuş nötrofillerdir.

Alt ekstremitelerde iskemi reperfüzyon hasarı, aort cerrahisinde başta olmak üzere serebrovasküler olaylar, miyokard infarktüsü, mezenter ve periferik arter embolilerinde uygulanan trombolitik tedaviler, organ transplantasyonu, sepsis, şok, yanık, pankreatit gibi cerrahi ve travmatik durumlarda ortaya çıkan iskemi ve hipovoleminin düzeltilmesi sırasında oluşabilmektedir. Ayrıca ekstremitelere cerrahi girişim sırasında uygulanan turnikeler diğer reperfüzyon hasarı sebebidir (2).

Ekstremitte cerrahisi girişiminde turnike uygulaması sırasında iskemik kalan alt ekstremitte dokusuna oksijen ve diğer metabolitler sağlanamayıp artık maddeler dolaşım tarafından uzaklaştırılamaz ve dokuda birikir. İskemik bölgedeki hücreler daha önceden sürdürdükleri aerobik metabolizmayı idame ettiremedikleri için anaerobik metabolizma yoluyla enerji sağlamaya çalışırlar. İskemiye bağlı olarak lokal ve uzak organ hasarından sorumlu olan nötrofil aktivasyonu, proinflamatuvar sitokinlerin salınımı, komplemanın aktivasyonu, serbest oksijen radikalleri (SOR) ve proteazların oluşumu, endotelin, angiotensin ve katekolaminler gibi vazokonstrüktör ajanların salınımı gerçekleşir.

Özellikle alt ekstremitte iskemi reperfüzyon dönemi sonrasında oluşan uzak organ hasarında böbrekler hedef organ konumundadır ve bu durum klinik olarak önem taşımaktadır. Lökosit aktivasyonu ile karakterize enflamatuar yanıt end organ hasarında en önemli rolü oynar. Ayrıca iskemi reperfüzyona bağlı hasarda anjiotensin, katekolaminler ve endotelin gibi mediatörlerin de miktarları artmakta, buna bağlı olarak vazokonstriktör etkiler oluşmaktadır (3).

İskemi reperfüzyon hasarı tedavisi için birçok ilaç ve antioksidan maddeler denenmiş ve halen üzerinde çalışılmaktadır. Son yıllarda klinik çalışmalarda böbrek iskemi reperfüzyon hasarını engellemeye yönelik birbirinden farklı yaklaşımlar denenmektedir.

Bu çalışmanın amacı, antioksidan etkisi bilinen curcuminin ve deksmedetomidinin, alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarı sonrası böbrek dokusuna etkilerinin histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelenmesidir.

1.GENEL BİLGİLER

1.1 Turnikenin Gelişimi ve Etkileri

Turnike günümüzde ortopedik cerrahide sık kullanılan bir yöntemdir. İlk turnike tanımı MS ikinci yüzyılda bir Romalı cerrah tarafından yapıldı. 1817 yılında bir Fransız cerrah olan Jean-Louis Petit, hemostaz için yaptığı cihazı “ turnike” olarak nitelendirdi (4). 1873 yılında Esmarch, lastik bant şeklindeki turnikeyi tanımlamıştır (5). Pnömatik turnike 1904 yılında Harvey Cushing tarafından tanımlanmıştır. Ekstremitte cerrahisinde yaygın kullanımı ise Klenerman’ın 1960’lı yıllardaki çalışmalarıyla olmuştur (6).

Pnömotik turnikeler kullanılmadan önce kansız ameliyat sahası sağlamak 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 bağlı olarak diğer bir deyimle sagittal kuvvetlerin sıkıştırmaya ve aksiyal kuvvetlerin çekmeye neden olmasından dolayı deri, kas, sinir ve damarlar turnikenin mekanik basıncı altında zarar görebilirler (4). Turnikenin etkilediği doku kitlesi kola göre bacakda daha fazladır. Bunun için turnike ekstremitenin proksimal kısmına yerleştirilmelidir (7).

Turnike basıncının ne olması gerektiği halen tartışmalıdır. Uygulanacak basınç arteriyel kan geçişini önleyecek ve hemostazı bozmayacak en düşük değerde olmalıdır. Elde edilen bulgular, bugüne kadar gerekenden daha büyük basınçlar kullanıldığı yolundadır. Kullanılan turnikenin büyüklüğüne bağlı olarak minimal arteriyel oklüzyon basıncı (AOP) doku hasarı en aza indirmek amacıyla turnike uygulaması öncesinde belirlenmelidir. Graham’ın formülü kullanılarak arteriyel oklüzyon basıncı bulunabilir . Bu formül kullanılarak 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 gerekir (8).

Graham formülü: $AOP : [(\text{Sistolik Basınç-Diyastolik Basınç}) + (\text{ekstremitte çevresi}) / 3$
(manşon genişliği)] + diyastolik basıncı

Bu konuda bir diğerk görüş ise Klenermana ait olup alt ekstremitede koldan ölçülen sistolik basıncın iki katını kullanmayı önermektedir (9). Pedowitz ise hemostasisi sağlayacak minimum turnike basıncını ekstremitte boyutunu, kaf tipine, kaf genişliğine, periferik vasküler durumuna ve intraoperatif sistolik kan basınç aralığına bağlamıştır (10).

Turnikenin indüklediği iskemi için güvenli süre konusu tartışmalıdır. İskemi oluşmaması için tavsiye edilen maksimum süre 1 saattir. Ancak 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 koruması yetersiz kalıp patofizyolojik süreçler ve inflamatuvar kaskatlar çok daha fazla etkilenir (11).

Turnikenin serbest kalması ile birlikte ekstremitte çevresinde ani % 10 luk artış oluşmaktadır. Bu dolum intrakompartmanal basınç da artış ile beraberdir. Ameliyat sonrası ilk gün ekstremitte çevresi %50 oranında artış olabilir. Bu şişkinlik postoperatif 6 hafta boyunca kalabilir (11).

1.1.1 Turnike Kullanımıyla Oluşabilen Problemler ve Komplikasyonlar:

A-Volüm Yüklenmesi: Ekstremitedeki kanın boşaltılması sırasında periferik sirkülasyondan santral dolaşıma kanın ototransfüzyonu ile gerçekleşir (12). Bradford 1969 yılında yaptığı çalışmasında tek bir bacağın kanının boşaltılmasını takiben turnike uygulandığında; santral venöz basınç'da (SVP) 9,7 cm H₂O'luk, artış görülürken, 2 bacağa turnike uygulandığında SVP 'deki ortalama artış 14,5 H₂O'ya ulaşmakta olduğu, yine aynı çalışmada her iki bacakta kanın boşaltılmasını takiben santral sirkülasyonda 700-800 ml. artış olduğunu saptamışlardır. Turnikeye bağlı olarak gelişen iskemi-reperfüzyonun kardiyovasküler sistem üzerinde önemli etkileri vardır. Ortalama arteryel basınç (OAB) ağrıya sekonder olarak enflasyon sonra kademeli olarak artabilir. Genelde olguların %11-66'sında görülür. Genel anesteziye göre rejyonel anestezi turnike ağrısına bağlı olan kardiyovasküler cevapları daha iyi düzenler . Deflasyon sonrası gelişen hipotansiyonun kısa bir süresinde metabolik ve laktik asidoz ile hiperkalemiye sekonder olarak alt ekstremitte cerrahisi sonrası miyokard depresyonuna ve yaşlı ya da işlev kaybı olan hastalarda kalp durması neden olabilir (13).

B-Pulmoner Emboli : Turnike uygulaması sonrası intravasküler endotelyum zarar görebilir. Turnike zamanının 60 dakikadan fazla olması derin ven tromboz (DVT) riskinde artış ile paralellik gösterir. Turnikenin inflasyon süresince DVT oluşumu başlar ve deflasyon sonrası tromboz markerlerinin dolaşımında artmasına bağlı olarak devam eder. Özellikle immobilize hastalarda gelişebilir. Postoperatif dönemde yeni oluşan kalp blokları ve kardiovasküler kollaps ile pulmoner emboli tanısı akla gelir. Ölümcül veya yakın ölümcül pulmoner emboli ilk olarak ortopedik cerrahi sırasında Esmarch bandaj ve turnike enflasyon kullandıktan sonra ve akabinde turnike deflasyon sonrasında da rapor edildi. Ortopedik cerrahi boyunca pulmoner embolinin kemik medüller kanala invazyonu sonucu yağ embolisi neden olabilir. Turnikenin deflasyonu sonrasında çimento ve hava emboliside rapor edilmiştir (14).

C-Cilt Travması : Turnikenin düzgün yerleştirilmemesine veya turnike altındaki desteğin yeterli olmamasına bağlı ciltte basınç travması ile abrasyon, ekimoz ve ödem gelişebilir (12).

D-Metabolik - Kan gazı Değişiklikleri :İskemik turnike altındaki bölgede hipoksi, hiperkapni, asidoz, hiperkalemi ve laktik asidemi izlenmektedir. Bu değişiklikler hafiftir ve tolere edilebilir (15).

E-Turnike Ağrısı :Turnike kullanılmasının sık karşılaşılan bir komplikasyonudur ve nedeni halen anlaşılamamıştır. Şiddetli, künt, sızı tarzında, turnike bölgesinde veya kafın hemen distalinde, ekstremitede yeterli anestezi düzeyine rağmen gelişebilen ağrıdır. Turnikenin indirilmesinden sonra ekstremitenin reperfüzyonu ile bağlantılı olarak farklı bir ağrı da görülür. Bu duyu hastalar tarafından yoğun, vibratuar karakterde, karıncalanma şeklinde tarif edilmekte ve kimi zaman turnike indirilmeden hemen önceki ağrıdan daha yoğun olabilmektedir. Crews, ağrının oluşmasında sinir gövdesine olan doğrudan iskemik etkiyi veya anaerobik metabolizmanın lokal ürünlerine bağlı majör arterlerin duysal innervasyonunu etkilemesini suçlamıştır (16).

F-Kas Hasarlanması :Turnike kullanımının kısa dönemlerinde bile iskelet kası ciddi bir şekilde etkilenebilir. Kas iskemik hasara sinirden daha yatkındır. İskemi ve sonrasındaki reperfüzyona bağlı kas hasarı mekanizması iyi anlaşılmıştır. Kompleman aktivasyonu, mast hücre degranülasyonu, nötrofil adezyonu ve infiltrasyon ve mikrovasküler disfonksiyonun hepsi birden rol oynar. 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 apoptozis ile sonuçlanan mitokondriyal disfonksiyona sebep olabilirler (17).

G-Doku Hasarı :Turnike uygulanan ekstremitede ödem, kompartman sendromu, post-turnike sendromu görülebilir. Turnike süresi ve basıncından bağımsız olarak turnike indirilmesini takiben ortaya çıkar. Ekstremitede ödem en sık görülen hasarlanmadır. Bu etkinin yarısı boşaltılmış kanın geri dönmesine, kalan yarısı ise post-iskemik reaktif hiperemiye sekonderdir. Kompartman sendromu nadirdir (18).

Post-turnike sendromu: İlk olarak 1951 yılında Bruner tarafından tanımlanan sendrom turnike açılmasını takiben, şişmiş, katı, soluk ekstremitede aynı zamanda güçsüzlük olması ancak paralizisi görülmemesi ile karakterizedir. Turnike sonrasında oluşan ödemin etiolojide rolü esastır. 1-6 haftada normale döner (12).

H-Sinirsel Hasar :Geçici veya kalıcı sinir felçleri ile fonksiyonel sekel vakaları literatürde nadirdir ancak sinir yaralanmaları özellikle yüksek pnömatik turnike kaf basınçlarında ve uzun süreli turnike kullanımı sonrası 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. İskemi ve reperfüzyon boyunca ekstremitenin disfonksiyonu sonucu aksonal veya nöromusküler kavşak hasarı veya her ikisi birden oluşabilir. 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 . Üst ekstremitede radial sinir en çok hasar gören sinirdir. Anatomik pozisyonun kemiğe yakın oluşu, aradaki yastık dokunun zayıf olmasına bağlı olarak sıklıkla etkilenir. 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 (19).

I- Yara Enfeksiyonu :Uzun süreli turnike kullanımı enfeksiyon komplikasyonları açısından riskli kabul edilmektedir. Turnike kullanımının sistemik inflamasyona cevabı ,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 (20).

J-Nörolojik Etkiler: Turnike deflesyonu 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 (21).

K-Oksidatif Stress Üzerine Etkiler: Turnike açıldıktan sonra, kas ve sinir dokusunda iskemi reperfüzyon hasarı olabilmekte, hipoksik hücresel değişiklikler, anaerobik glikolizis ,nötrofil aktivasyonu ve hücre membran makro moleküllerinin peroksidasyonu ile reaktif oksijen radikalleri oluşabilmektedir (4).

1.1.2 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
- İlgili ekstremitelerde derin ven trombozu
- İlgili ekstremitelerde enfeksiyon, artroz/ aktif artrit bulunması
- İlgili ekstremitelerde cilt problemleri
- A-V fistül
- Yeterli ekipmanın bulunmaması
- Orak hücreli anemi (12).

1.2. 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 kalmasına ve beslenmesinin bozulmasına iskemi denir. Hücresel olayların gerçekleşebilmesi için gerekli en önemli madde oksijendir. Oksijen yetersizliği durumunda anaerobik metabolizma devreye girer. Bu da laktik asit ve toksik metabolitlerin birikimi ile sonuçlanır. Ortaya çıkan asidoz nedeniyle normal enzim kinetiği değişir ve yüksek enerjili fosfat bağlarının yapımı azalır. Bu durumda hücre kendi homeostazı için gerekli olan enerjiden yoksun kalır. Hipoksik durumun şiddetine bağlı olarak hücreler adapte olabilir, zedelenir, ya da ölür. İskemi hücre zedelenmesinin en sık görülen tipidir. Hipoksi ise dokuya yetersiz oksijen sunumu şeklinde tarif edilebilir. Her iki durumda iskemi-reperfüzyon

hasarının ilk kısmını oluşturmakta ve metabolizmanın anaerobik tarafa kaymasıyla karakterizedir (22).

Oksijen homeostazı insan fizyolojisinde hayati önem taşır. Oksidatif fosforilasyon sırasında ATP sentezi için kullanılan oksijen aynı zamanda hücrel lipid, nükleik asit ve proteinlerdeki oksidatif hasar mekanizmalarında da rol oynar. Dolayısıyla, protein sentezi ve aktivitesini kontrol eden kısa ve uzun dönem mekanizmalarla hücrel ve sistemik oksijen konsantrasyonlarının dengelenmesi oksijen biyoyararlanımı açısından önemlidir. İskemide hücre zedelenmesinin patogenezinde oksijen yetersizliğinin önemi belirtilmekle birlikte kısmen azalmış reaktif oksijen türevleride hücre ölümünün önemli araçlarındandır (23).

İskemiye bağlı hasarın şiddeti, hipoperfüzyonun süresi ve miktarı ile orantılı olup, hücrenin tipi, yaralanmaya karşı hassasiyeti, diferansiyasyonu, kan ihtiyacı ve metabolizmasına göre farklılık gösterir. İskemiye bazı dokular dirençli iken (kemik, deri), bazı dokular hassastır (iskelet kası, böbrek) (23).

Uzun süreli iskemilerde; hücrel şişme, asidoz, hücre içi kalsiyum/sodyum oranında artış, ATP/fosfokreatin seviyesi azalması, hipoksantin seviye artması, membran potansiyel değişiklikleri, iskelet bütünlüğü kaybı, nükleotid hidrolizi gibi hücre metabolizması ve iskelet yapısını ilgilendiren birçok değişim meydana gelir (2). İskeminin süresine ve şiddetine bağlı olarak iki türlü hücrel zedelenme ortaya çıkar:

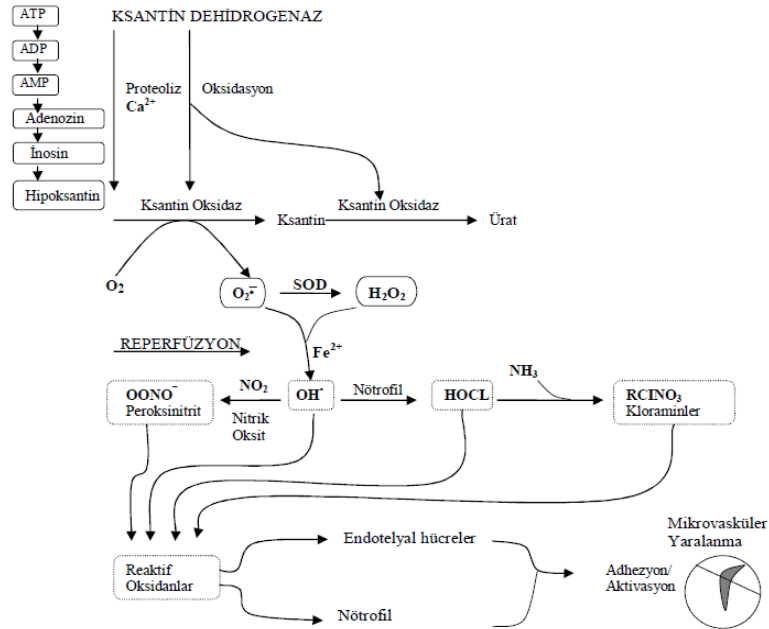
- a) Geri dönüşlü zedelenme
- b) Geri dönüşsüz zedelenme.

1.2.1 Geri Dönüşlü Zedelenme

Normal koşullarda 3-4 dakikalık iskemi, yüksek enerjili fosfat olan fosfokreatinin ile adenzin trifosfat (ATP) depolarının boşalmasına ve enerji bağımlı membran iyon pompalarının normal iyon gradiyentini gerçekleştirememelerine yol açar. Özellikle potasyumun difüzyonla dışarı atılımı ve sodyumun hücre içi birikimine yol açan sodyum pompası yetersizliğine sebep olacak şekilde oubain duyarlı ATPaz aktivitesinin azalmasına neden olur. İyon tutulumuna izo-ozmotik su birikimi eşlik etmesi ile 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 (24).

Anaerobik glikoliz ile aerobik glikolizle oluşan ATP nin ancak % 7 si elde edilebilmektedir. Hücre ATP de azalma ile birlikte adenosin monofosfat (AMP) artışı fosfofruktokinazı uyarır, bu da anaerobik glikoliz ile glikojenden ATP sentezini artırarak hücreye enerji sağlar. Glikolizis laktik asit ve fosfat türevlerinin hidrolizi ile inorganik fosfatların birikimine yol açar, bu da hücre içi pH'şını düşürür (24). Yine iskemi sırasında devam eden başka bir olay ATP seviyesinin azalmasına karşın ADP düzeyinin artmasıdır. Artan ADP'ler önce AMP'ye daha sonra adenosin, inosin ve en sonunda hipoksantine dönüşür. Hipoksantin reaktif oksijen radikallerinin prekürsörü olarak hücre içinde miktarı artar (2). Normal koşullarda hipoksantin, ksantin dehidrogenaz yardımıyla ksantine dönüştürülür. İskemi sırasında ksantin dehidrogenaz ksantin oksidaza dönüşür. Substrat olarak nikotinamid adenin dinükleotid kullanan ksantin dehidrogenazın aksine ksantin oksidaz oksijeni kullanır. Bundan dolayı 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 (24) (şekil 1).

Şekil 1 Ksantin-hipoksantin metabolizması ve serbest oksijen radikal oluşum şeması



(Kaynak: Rangan U, Bulkeley G. Prospects for Treatment of Free Radical-Mediated Tissue Injury. Br Med Bull. 1993; 49(3): 700-18.)

Serbest radikallerin oluşumundan sonra ribozomların granüllü endoplazmik retikulumdan (GER) ayrılması ve polizomlardan monozomların oluşumu ile protein

sentezinde azalma bunu takip eder. Hipoksinin devam etmesi ile mitokondrial fonksiyonun daha da kötüleşmesi ve membran geçirgenliğinin artışı sonucunda morfolojik hasar artar. Hücrenin ana hatları, mikrovillus gibi ultrastrüktürel özelliklerin kaybı ve hücre yüzeyinde kabarcıkların oluşumu ile bozulur. Mitokondri, endoplazmik retikulum ve tüm hücreler ozmotik regülasyonun bozulmasından dolayı şişmişlerdir . İskemi düzeltilir ve O₂ düzeyleri normale dönerse tüm bu bozulmalar geri dönebilir, ancak iskemi ve hipoksi devam ederse ATP'deki azalma şiddetlenir geri dönüşümsüz hasar meydana gelir (25).

1.2.2 Geri Dönüşsüz Zedelenme

Morfolojik olarak mitokondrilerin ileri derecede vakuolizasyonu, plazma zarlarının aşırı yıkımı, lizozomların şişmesi görülür. Mitokondri matriksinde şekilsiz yoğunlaşmalar gelişir. Mitokondride iskemiden sonra bu erken geri dönüşsüz zedelenme bulguları 30-40 dakikada gözlenebilir (24).

Kritik iskemi zamanı, doku canlılığının sürdürülebildiği maksimum iskemi süresi olarak tarif edilir. Ortalama kritik iskemi süresi ise %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 (2).

Sürekli olarak aşırı geçirgen membranlardan protein, temel koenzimler ve ribonükleik asitler kaybolur. Hücre aynı zamanda yaşamını sürdürmek için gerekli olan ATP'nin yeniden oluşumunda kullanacağı hücre içi yüksek enerjili fosfatlarını yitirir (22).

PH düşmesi lizozom membranlarında zedelenmeye yol açar. Enzimler sitoplazmaya geçerek asit hidrolazların aktivasyonu ile hücre bileşenlerinin enzimatik sindirimine bu da ribonükleoprotein, deoksiribonükleoprotein ve glikojen yitimine sebep olur. Tüm bu olaylar sonucunda ölü hücre myelin şekiller biçiminde büyük fosfolipid kitlelerine dönüşebilir. Bu ya diğer hücrelerce fagosite edilir ya da yağ asitlerine parçalanır. Yağ asitlerinin artıklarının kalsifikasyonu kalsiyum sabunlarının oluşmasına neden olur. Hücrede meydana gelen iki olay geri dönüşsüzlüğü karakterize eder. Önce mitokondriyum işlev bozukluğunun yeniden kanlanma ve oksijenlenmeye karşı düzelmeyişi (oksidatif fosforilasyon ve ATP rejenerasyon yokluğu) ve daha sonra membran işlevlerinde belirgin bozuklukların gelişimi (24).

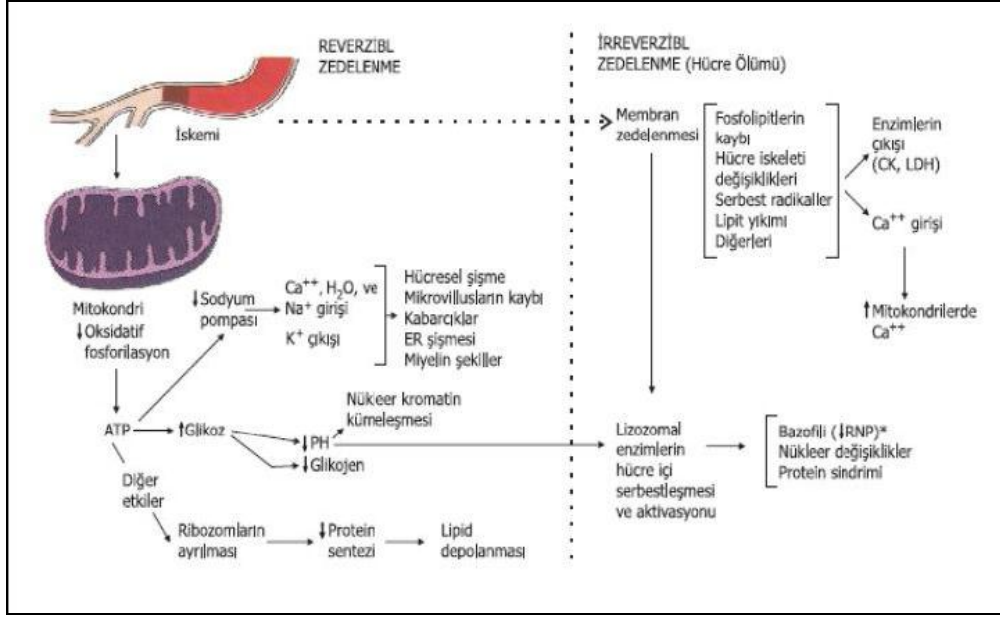
Geri dönüşsüz hücre zedelenmesinde mekanizmalar ne olursa olsun sonuç aşırı miktarda Ca^{+2} un hücre içine girmesidir . Membran zedelenmesi sonucunda kalsiyum yüksek yoğunlukta bulunduğu hücre dışından hücre içine geçer. Reperfüzyon sağlansa dahi kalsiyum akümülyasyonu devam eder. Kalsiyum mitokondriler tarafından alınır; 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 olusumu artan oksijen radikallerinin etkisine daha duyarlı hale gelecektir. Bu nedenle iskemi ne kadar uzarsa meydana gelen reperfüzyon hasarı da o derece ciddi olmaktadır (24).

Hücre hasarında 4 ana sistem etkilenir:

- 1- Hücre membran bütünlüğü, hücre ve organellerinin iyonik ve osmotik dengesi
- 2- Aerobik solunum, mitokondrial oksidatif fosforilasyon ve ATP oluşumu
- 3- Protein sentezi
- 4- Hücrenin genetik aparatı

Hücresel fonksiyonlar hücre ölümünden önce kaybolur. Hasarın morfolojik görünümü, kritik biyokimyasal sistemlerde bozukluklar oluşup geri dönüşsüz hasar oturduktan çok sonra belirgin hale gelir. Hücre şişmesi dakikalar içinde görülebilen geri dönüşümlü bir hasardır. Geri dönüşsüz hasar 20-60 dakika içinde ışık mikroskopunda görülebilirken, hücre ölümü ancak 10-12 saatte belirgin hale gelir (24).

Geri dönüşsüz hasarın temelinde iki olay vardır; birincisi belirgin enerji azalmasının neden olduğu olaylar geri döndürmede yetersizlik, ikincisi membran fonksiyonlarının ileri düzeyde kaybıdır (24).



Şekil 2 Hücre zedelenmesinde Ca^{+2} un rolü ve hücre zedelenmesi (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.

1.3.Reperfüzyon

Reperfüzyon, iskemide kalan dokuya kan akımının ve bununla birlikte O_2 nin tekrar gelmesidir, yani dolaşımın düzeltilmesidir. Reperfüzyonun, iskemik dokuda enerji ihtiyacının sağlanması ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması gibi iki olumlu etkisi vardır. Reperfüzyon iskemik hasarın düzeltilebilmesi için gerekli bir süreçtir. Kısa süreli iskemilerde reperfüzyon hasarının şiddeti hafif olurken, iskeminin süresinin uzun ve geri dönüşümsüz hasarın olduğu durumlarda reperfüzyonla birlikte hücrelerin kurtarılması mümkün olmayabilir. Eğer hücrede geri dönüşümsüz hasar oluşmamış ise enerji depolar ve hücresel homeostaz geri kazanılır. Reperfüzyon sağlanırken iskemik hücreler geri dönüşümsüz hasara uğrayabilirler. Hatta reperfüzyon sonucunda ortaya çıkan hasar iskeminin tek başına oluşturduğu hasardan daha aşırı olabilir. Bu fenomeni açıklamaya yönelik bir takım hipotezler geliştirilmiştir. İskemi sırasında bazı hücrelerin hasara karşı duyarlı hale gelebileceği ve reperfüzyon sırasında ortaya çıkan bazı zararlı etkenler karşısında bütünlüklerini kaybedebilecekleri ileri sürülmüştür. Duyarlı hale gelmiş bu hücreleri öldürebilen en olası zararlı etkenin serbest oksijen radikalleri olduğu ileri sürülmüştür. Bunlar endotel ve parankimal hücrelerden ve inflamasyon nedeniyle dokuya nüfuz etmiş nötrofillerden kaynaklanabilir. Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonu ile membranlara zarar verebildikleri gibi, protein, DNA ve mitokondrilere de zarar verebilirler. Bunun dışında reperfüzyon esnasında hücre içine kalsiyum

akümülyasyonunun masif bir hal aldığı ve ardından kalsiyumun özellikle mitokondrilere alınmasının reperfüzyon hasarının belkemiğini oluşturduğu yönünde kanıtlar mevcuttur. İskemi sırasında dokuda oluşan metabolitler sirkülasyon olmadığından dokuda birikir. Kan akımının normale dönmesiyle (reperfüzyon) oluşan metabolitlerin oksidasyonu sonucu oluşan maddeler dolaşıma karışır ve kan yolu ile tüm vücuda yayılarak uzak organ hasarından sorumlu olurlar.

Reperfüzyon, iskemi sonrası iskeminin bıraktığı hasarı artıran bir potansiyele sahiptir. Reperfüzyon hasarı endotelyal ve mikrovasküler disfonksiyon, sellüler nekroz ve apopitozisle karakterizedir. Reperfüzyon hasarına yol açan mekanizmalar, etkileyici bir düzen içindedirler (26).

1.4. İskemi Reperfüzyon Hasarı Mekanizmaları

İskemik dokunun infarktüsden kurtulması için reperfüzyon şarttır. Ancak reperfüzyon iskeminin dokuda yapmış olduğu hasarı arttırarak infarkt sahasının genişlemesine neden olur. Bu olayların tamamına birden “reperfüzyon hasarı” adı verilir. İskemiye maruz kalan her dokuda reperfüzyon hasarı oluşur. Reperfüzyon sonucu meydana gelen hasar, hasarlı doku ya da organlardaki inflamatuvar cevap nedeniyle meydana gelmektedir. Oksijenlenmiş kanın tekrar dokuya dönmesiyle beyaz kan hücreleri bu bölgede birikir ve interlökinler gibi inflamatuvar faktörler aynı zamanda doku hasarı sonucu oluşan serbest radikaller salınır. Tekrar normale dönen kan akısı ile hücresel proteinler, DNA ve plazma membranı hasar görmektedir. Hücre membranına verilen zarar çok daha fazla serbest radikalın salınımına neden olmaktadır (26). İskemik dokunun reperfüzyonu sırasında dokuya sağlanan oksijen ve metabolitler, hasarı geriletebileceği gibi hasarın ilerlemesine de neden olabilir. Bu ince çizgi, iskemik hasarın geri dönüşümlü olup olmadığına bağlıdır.

İskemi reperfüzyon hasarında fizyopatolojik değişikliklere sebep olan faktörler arasında

- a) Serbest oksijen radikalleri
- b) Polimorf nükleer lökositler ve endotel etkileşimi
- c) Kompleman sistemi yer alır (20).

1.4.1. Serbest Radikaller ve Oksidanlar

Yapılarında eşleşmemiş elektron içeren atom veya bileşikler serbest radikaller olarak tanımlanmaktadır. Diğer bir deyişle serbest radikaller; yapılarında tek sayıda elektron içeren, açık elektron kabuğu konfigürasyonuna sahip atom veya moleküllerdir. Bu dengesiz durumun yarattığı enerji, organizmanın temel yapı taşları olan proteinler, karbonhidratlar, lipidler ile inorganik kimyasallar gibi komşu moleküllerle olan tepkimeler sonucu açığa çıkar. Serbest radikaller, hücre membranları ve nükleik asitlerin yapısında yer alan anahtar moleküllerdir. Serbest radikaller 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 (27) (Tablo 1).

Serbest radikaller	Radikal olmayan reaktif O ₂ bileşikleri	SOR etkisi sonucu oluşan radikaller
Süperoksit (O ₂ ^{·-})	Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	Karbon merkezli radikaller (R [·])
Hidroksil (OH [·])	Singlet oksijen (¹ O ₂)	Peroksil/Karboksil (ROO [·])
Hidroperoksil (HO ₂ [·])	Hipokloröz asit (HOCl)	Alkoksil (RO [·])
Nitrik oksit (NO [·])	Peroksinitrit (ONOO [·])	Thiyl radikaller (RS [·])
Azot dioksit (NO ₂ [·])	Ozon (O ₃)	
	Lipid hidroperoksit (LOOH)	

Tablo 1 Serbest oksijen radikalleri ve oksijen bileşikleri

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 bağ 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 strete her iki reaksiyon da yer alır. Serbest radikallerin aktiviteleri farklılık gösterir. Hidroksil (HO-) gibi baz radikaller yüksek aktiviteye sahipken, E vitamininin oksidasyon ürünü olan tokoferoksil gibi bazı bileşiklerin aktiviteleri çok önemli değildir. Serbest radikallerin hedef molekülle kompleks oluşturma reaksiyonları; başlangıç, ilerleme ve sonlanma olmak üzere üç aşamada meydana gelir. 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 (27).

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 (Ultraviole, X ışını),

d. Alkol ve uyuşturucular,

e. Çevresel etkenler (Hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, pestisid, sigara dumanı, solventler, anestezikler 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 antibiotikler),

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

c. Mitokondrial elektron transport zinciri,

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

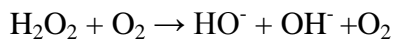
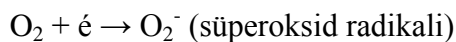
Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar (27).

1.4.1.1 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 (28).

Aerobik canlılarda serbest radikaller için en önemli kaynağın moleküler oksijen olduğu kabul edilmektedir. Normal metabolizma sırasında oksijenin %98'i H₂O'ya indirgenmektedir. Geriye kalan %2'lik kısım süperoksit ve hidroksil radikaline dönüşür. En önemli serbest oksijen radikalleri süperoksit (O₂⁻) ve hidroksil (OH) anyonlarıdır (28).

Zayıf bir oksidan olan süperoksit radikalinin önemli hücre hasarlarına yol açması mümkün görülmemektedir. Fakat süperoksit radikalleri oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir (28). Bu reaksiyonların en önemlilerinden biri Haber-Weiss reaksiyonudur. Bu reaksiyonda O₂ ve H₂O₂ demir varlığında etkileşerek oldukça reaktif olan HO⁻ radikallerini oluşturmaktadırlar.



Üretilen bu OH⁻ radikalleri oldukça reaktif olup DNA gibi yapılarla reaksiyonlara girerek önemli hasarlara yol açabilmektedir (28).

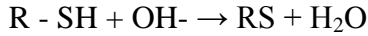
Superoksit radikalleri kısa bir yarı ömre sahip olup dismutasyon reaksiyonu ile H₂O₂ ve oksijen üretirler. Dismutasyon reaksiyonu spontan olarak meydana gelmekte ve reaksiyon SOD enzimi ile katalizlenmektedir.



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



Yine OH aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiklerinden DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna neden olurlar. Bir dizi reaksiyona katılabilen OH- radikalleri DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına neden olurlar. Hasar çok kapsamlı olursa hücre koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir (49). DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşmenin yanı sıra OH⁻ radikalleri tiol grubu içeren biyolojik moleküllerden H atomu da koparabilmektedirler.



Sülfür radikalleri, O₂ ile kombine olabilir ve oksisülfür radikallerini oluştururlar. RSO₂ ve RSO gibi bunların birçoğu da biyolojik moleküllerde hasara neden olurlar. OH⁻'in sebep olduğu en iyi tespit edilmiş olan biyolojik hasar lipid peroksidasyon olayıdır. OH⁻ membran fosfolipitlerinin doymamış yağ asit yan zincirlerine hücum eder. Böylece OH⁻ radikalleri, yüzlerce yağ asitlerinin yan zincirlerini lipid hidroperoksitlere dönüştürür. Membranda lipid hidroperoksitlerinin birikimi membran fonksiyonunu bozar. Peroksil radikaller ve sitotoksik aldehitler, membran proteinlerinde ciddi bir hasara neden olurlar ve membrana bağlı bazı enzimleri ve reseptörleri inaktive ederler (28).

1.4.1.2.Nitrik Oksit

Nitrik oksit L-Arginin'in guanidium grubundan, Nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi aracılığı ile endotelde sentezlenen diatomik serbest radikaldir. 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 (29).

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 (29).

1.4.1.3.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 (29).

Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bunun nedeni doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallere reaktivitesinin yüksek olmasıdır. Reaktiviteleri için yukarıdaki aminoasitlere bağımlı olan glutasyon redüktaz ve gliseraldehid 3 fosfat dehidrogenaz gibi enzimler, serbest radikallerden kolaylıkla etkilenerek inhibe edilirler. Serbest radikal harabiyetinden proteinlerin ne derece etkileneceği aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Protein harabiyetinin boyutları, proteinin hücresel lokalizasyonuna ve radikalın toksisite gücüne göre değişebilir (30).

H₂O₂, 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 H₂O₂'nin invitro olarak hiyalüronik asidi parçaladıkları gösterilmiştir (30).

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 (30).

Lipid peroksidasyonunda, lipit hidroperoksitlerini oluşturmak için hücre membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asidi (PAYA) ile oksijen radikali reaksiyona girer. Lipidlerin doymamışlık derecesi ile orantılı olarak peroksidasyon şiddeti artar. PAYA'ların oksitlenmesi ile yağ asidi radikali oluşur. Buna oksijenin eklenmesi ile lipid peroksi radikali oluşur. Peroksi radikali zincir reaksiyonunun taşıyıcısıdır. E vitamini ve/veya erdosteine gibi bir antioksidan tarafından önlenmezse komşu PAYA moleküllerini okside eder (30).

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 poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarlar. Lipid peroksitlerinin yıkımından oluşan ürünlerden biri malondialdehittir (MDA). Lipid peroksidasyonu membran yapısına direkt olarak ve reaktif aldehidler üreterek diğer hücre bileşenlerine indirek olarak zarar verir. Mikroviskozitesi ve membran permeabilitesi ciddi şekilde etkilenir. Membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna peroksidasyonla oluşan MDA

sebepler olur. Bu da iyon transportu, enzim aktivitesi, deformasyon ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir (30).

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 sebeple, 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 (30).

1.5. Ekstremité İskemi Reperfüzyon Fizyopatolojisi ve Uzak Organ Hasarı

Reperfüzyon sendromunda esas olarak iki önemli komponent vardır. Bunlardan biri iskemik sahada oluşan lokal hasar, diğeri yetmezlikle sonuçlanan uzak organ hasarıdır. İskelet kası hem en büyük kütle olması hem de iskemik hasara en hassas dokulardan olması nedeniyle alt ekstremité iskemisi reperfüzyon hasarında önemli rol oynar. Alt ekstremité iskemisi reperfüzyon hasarında mikrovasküler disfonksiyon ve kas değişiklikleri birbirleriyle paralel seyretmekte olup, prognoz kas hasarı miktarına bağlıdır. Sonuçta meydana gelen inflamatuvar yanıt, geri dönüşümlü zedelenme miktarı ile doğru, nekrotik kas miktarı ile ters orantılıdır. Alt ekstremité iskemisi reperfüzyon hasarında 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 (31).

Kas nekrozu ve ATP deposu azalması arasında yakın ilişki saptanmıştır. İskemik kas dokusunda öncelikle glikojen ve kreatin fosfat azalırken bu safhada myonekroz oluşumu azdır. Sonrasında, ATP azalmasıyla birlikte, kas nekrozu hızla artma gösterir. 6 saatlik kas iskemisini takiben ATP deposunda %80 azalma ve kas dokusunun tümünde nekroz gözlenir.

Mikrodolaşım değişiklikleri, iskemik dönemde gerçekleşir ve iskemi süresi ile uyum gösterir. İskemi ilk olarak kapiller endotel hücreleri etkileyerek hem lümen hemde sitoplazmaya doğru uzanan parmaksı çıkıntılar oluşturur. İskeminin devamıyla birlikte endotel veziküllerinde artış oluşur. Bu arada, hücreler arası bağlar zayıflar ve geçit genişler. Heterojen dağılımlı endotel hücre ödemi oluşarak kırmızı küre sıkışmasını artırır. İskeminin dördüncü saatinden sonra mikrosirkülasyonda hücresele etkileşimler başlar. Venöz ve arteryel 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 gelişir. Platelet kümeleri endoteldeki defektleri kapatır. Venlerde lökosit diapedezi oluşurken, venöz kılcallarda lökositlerin lenfosit ve monositlerle olan kümeleşmesi oluşur. Kas iskemisi ilerlediğinde kası besleyen damarda kalıcı tıkanıklık oluşur. İskemi süresi uzadıkça damarsal geçirgenlik artışı ve ilerleyici intersitisyel ödem oluşur (32).

İskemik doku reperfüzyonu inflamatuvar bir cevap doğurur. Ancak doku nekrozundan reperfüzyon döneminden çok iskemik dönem sorumludur. Reperfüzyon sağlanmış hasarlı ve nekrotik alan miktarı morbiditeyi belirler (33).

İnflamatuvar cevabın tetikleyicileri; asit fosfataz, inorganik fosfat, laktik asit, miyoglobın, nükleotidler, potasyum, proteolitik enzimler, pürin bazları gibi kas yıkım ürünleridir. Bu ürünler prokoagülan özellikle olup intrensek pıhtılaşma sistemini aktive ederek venöz kılcal trombozu ve kollateral arteriollerde vazospasm oluşturur. Dolayısıyla antitrombotik ve antiplatelet tedaviyle geri dönüşümlü hasar bölgelerine olan kollateral akım ve mikrodolaşım korunarak nekrotik genişleme engellenebilir (31).

İskemi reperfüzyon hasarının önemli sonuçlarından biri uzak organ hasarı olup yüksek mortalite ve morbiditeyle seyreder. Oluşan sistemik inflamasyon hemen her organda hasar oluşturabilir. Ancak ilk gözlenen 24-72 saat içinde gözlenen akciğer yetmezliğidir. Aynı zamanda karaciğer, böbrek, santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem ve myokard disfonksiyonu görülebilir. İskemi reperfüzyon hasarı böbrekte oldukça sık karşılaşılan ve ciddi sonuçlara neden olan patolojik süreçlerdendir. Gelişen mekanizma ne olursa olsun iskemi reperfüzyon hasarının sonucu reversible veya irreversible hücre polarizasyonunda bozulma, apoptozis veya hücre ölümüdür.

Böbrek vücutta en iyi perfüze olan organ olması nedeniyle hipoperfüzyona da en çok duyarlı organlardan biridir. Abdominal aort cerrahisinde postoperatif dönemde morbidite ve mortaliteyi etkileyen en önemli komplikasyon böbrek yetmezliğidir. Aortik cerrahide akut böbrek yetmezliği oluşmasında en önemli fizyopatolojik mekanizma iskemi reperfüzyon hasarıdır. Böbrek yetmezliğinde aortik kross klemp uygulaması ve iskemi reperfüzyon hasarı önemli yer tutar. İskemi ile başlayan Tümör Nekrozis Faktör alfa (TNF- α) artışı ve lökosit aktivasyonu ile karakterize inflamatuvar yanıt end organ hasarında en önemli rolü oynar (33).

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 iskemi reperfüzyon hasarında serbest oksijen radikalleri önemli rol oynamaktadır (33).

İskemi reperfüzyon hasarı öncelikle böbreğin hipoksiye duyarlı kısmından başlar. Böbreğe gelen kan akımının büyük kısmı renal korteksten geçer ve renal medullanın kanlanmasını sağlayan vasa rectaya çok az kan gider, bu da renal medullayı hipoksiye daha duyarlı hale getirir (33). Medüller hipoksi ayrıca hücrel enerji depolarının azalmasına, endotel ve düz kas hücrelerindeki aktin hücre iskeletinin bozulmasına neden olur. Bunun sonucu ise hücrel deformite ve çevre dokulardaki hipoksinin artmasıdır. Renal hasar öncelikle tubuluslarda oluşur. Nedeni iskemiye bağlı gelişen tubuler nekrozdur. Genellikle geriye dönüşümlüdür, reperfüzyonla birlikte 1-2 hafta içinde tübül fonksiyonları normale dönmektedir (33).

1.6.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 (34).

1.6.1.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 (34).

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 (27).

3. Zincir kırıcı (Chain-breaking etki): Serbest oksijen radikallerine bağlanarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye “zincir kırıcı etki” denir (34).

4. Onarıcı etki (Repair etki): Onarıcı etki üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Oksidatif hasar görmüş DNA molekülünü tamir eden enzimler bu guruba örnek olarak verilebilir (34).

1.6.2. Antioksidan Sistemler.

Vücutta reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları engellemek için birçok savunma mekanizmaları bulunmaktadır (34).

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 (35).

Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit, α - tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (34).

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 (34).

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 (36). Sekonder antioksidanlar, zincir kırıcı reaksiyon ile serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Lipid peroksidasyon zincirini kıran bir antioksidan olan α - 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 (27).

1.6.3. Enzimatik Antioksidanlar

1.6.3.1. 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.

Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD'nin ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (38).

1.6.3.2.Katalaz (CAT)

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 (38).

1.6.3.3.Glutatyon 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 elementini kullanır (38).

Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutatyon, glutatyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar.

Glutatyon peroksidaz 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 (38).

1.6.3.4. Glutatyon-S-Transferazlar (GST)

Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev almaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksidlere karşı glutatyon-S-transferazlar “Selenyum” bağımsız aktivite göstermektedirler (38) .

1.6.3.5. Glutatyon Redüktaz (GR)

Glutatyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipit peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutatyon, okside glutatyona dönüşmektedir. Oksidasyona uğramış bu yapıyı tekrar kullanmak için redükte glutatyona dönüştüren enzim glutatyon redüktazdır (38).

1.6.3.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz süperoksit radikalini suya çevirerek etki göstermektedir (38).

1.7. Böbrek

1.7.1 Böbreğin Anatomisi

Böbrekler karın arka duvarında retroperitoneal olarak yerleşimli olup, 12. torasik ve 3. lomber vertabralar arasında uzanırlar. Sağ böbrek, karaciğerin sağ lobunun büyük olması ve basısı 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. Her iki böbrek arkada diafragma, kuadratus lumborum ve psoas kaslarına yaslanır. Böbrekler mobil organlar olup solunumla ve pozisyonla yaklaşık 4 cm kadar yer değiştirebilirler. Her bir böbrek yaklaşık 11.5 cm uzunluğunda, 5-7 cm genişliğinde ve 2.5 cm kalınlığındadır. Ortalama ağırlığı 140-170 gramdır. Böbreği içten dışa doğru kapsula fibroza (böbreği dıştan saran, ince fakat sağlam fibroz kılıfı), kapsula adiposa (kapsula fibrozayı saran yağ tabakası) ve fascia renalis (karın duvarındaki fascia subserosanın kapsula adiposayı dıştan saran bölüm) olmak üzere üç kılıf sarar. Sol böbrek 11. ve 12. kostalarla komşuluk yaparken, sağ böbrek yalnızca 12. kosta ile komşudur (39) .

Böbrekler karın arka duvarına korpus pararenalis adı verilen yağ dokusu aracılığı ile oturmuşlardır. Gerota fasiyası böbrek kaynaklı patolojik durumları sınırlayan çok önemli bir patolojik bariyerdir. Ayrıca böbrekleri her yönden perinefrik yağ dokusu sarar. Böbrek kısmen renal fasya tarafından tutulur. Fakat böbreği yerinde tutan asıl faktör komşu visseranın apposition durumunun baskısıdır. Böbrek kapsula fibrosa ile sarılmıştır. Bu kapsül bol fibroz lifler, daha az sarı elastik lifler ve çok az da düz kas lifleri içerir. Böbreğin iç tarafında, böbreğe giren ve çıkan damarlardan ve pelvisden meydana gelen topluluğa hilus denir (39).

1.7.2. Böbreğin Kan Dolaşımı

Her böbrek kanı renal arterden alır. Renal arter organa girmeden önce genellikle iki dala ayrılır. Dallardan biri böbreğin ön bölümüne giderken diğeri arka kısmına uzanır. Kortikomedüller sınır düzeyinde interlober arterler arkuat arterleri oluşturur. Arkuat arterlerden dik açılarla dallanan inter lobüler arterler, böbrek kapsülüne dik şekilde korteks içinde ilerler. Glomerül kapillerine kan taşıyan afferent arteriyoller interlobüler arterlerden ayrılır. Kan buradaki kapillerden geçerek efferent arteriyollere aktarılır. Efferent arteriyoller proksimal ve distal tübüleri besleyecek ve düşük molekül ağırlıklı maddelerle iyonları dolaşım sistemine taşıyacak olan peritübüler kapiller ağı oluşturmak üzere bir dal verir (39).

Jukstamedüller nefronlarla ilişkili olan efferent arteriyoller ince, uzun kapiller damarları oluşturur. Medullada düz bir yol izleyen ve sonra yeniden kortikomedüller sınıra doğru geriye kıvrılan bu kapiller damarlara vaza rekta ya da düz damarlar adı verilir. Glomerülden süzülen kanı taşıyan bu damarlar medullanın beslenmesini ve oksijen gereksinimini sağlarlar. Dış kortekste ve böbrek kapsülündeki kapillerler inter lobüler venlere boşalan yıldızsı venleri oluşturmak üzere birleşirler. Venlerde arterlerle aynı yolu

izler. Kan interlobüler venlerden arkuat venlere ve oradan da interlobüler venlere akar. interlobüler venler renal veni oluşturmak üzere birleşir, buradan kan böbreği terk eder (39).

1.7.3. Böbreğin İnnervasyonu

Böbrekler otonom sinir sisteminin etkisi altındadır. Sinirleri plexus renalis adı verilen ağdan (T10-12) hilum renalis yoluyla gelirler. Sempatik etki böbrek damarlarını büzerek idrar oluşumunu azaltır. Parasempatik liflerin etkisi bilinmemektedir (40).

1.7.4. Böbreğin Fizyolojisi

Böbrekler filtrasyon, aktif emilim, pasif emilim ve salgılama işlevlerini kapsayan karmaşık bir dizi işlem aracılığı ile iç ortamın kimyasal bileşimini düzenler. Filtrasyon, kan plazması ultra filtratının olduğu glomerülde gerçekleşir. Nefronun tübül kısımları özellikle proksimal tübüller, filtrat içindeki vücut metabolizmasına yararlı olan maddeleri emer bu şekilde iç ortamdaki homeostasisin devamını sağlar. Tübüller aynı zamanda idrarla atılan belli zararlı maddeleri, kandan tübül lümenine aktarır. Toplayıcı kanallar, belli koşullarda suya geçirgen hale geçerek kan plazmasından daha hipertonic olan idrarın konsantrasyonunu arttırır (40).

İki böbrek dakikada 125 ml filtrat üretir; bu miktarın 124 ml'si emilir ve yalnız 1 ml'si idrar olarak kalikslere salınır. Her 24 saatte ortalama 1500 ml idrar oluşmaktadır. Erişkin bir kişide her iki böbreğe gelen kan dakikada 1,2-1,3 litreyi bulur. Bu durum vücutta dolaşan kanın her 4-5 dakikada bir böbrekten geçmesi anlamını taşır. Kanın hidrostatik basıncına yanıt olarak glomerüler filtrat oluşur. Glomerüler filtratın kimyasal bileşimi kan plazmasına benzer ancak makromoleküller glomerül duvarından geçmediği için hemen hiç protein içermez. Glomerül kapillerinin endotel hücreleri pencerelidir; (70-90 nm çapında) çok sayıda açıklık bulunurken diafram içermezler, bu sayede endotel geçirgenliği artar (40).

Proksimal tübüller filtrattaki glikoz ve amino asitlerin tümünü, suyun ve sodyum klorürün % 85'ini ve ayrıca fosfat ve kalsiyumu emer. Bütün bunlara ek olarak proksimal tübüller kreatinin gibi maddeleri ve paraaminohippurik asit, penisilin ve iodopyracet (kontrast madde) gibi vücuda yabancı olan maddeleri idrara salgılar. Bu maddelerin sekresyon hızının belirlenmesi böbrek işlevlerinin klinik açıdan değerlendirilmesinde yardımcı olur.

Henle kulpu su tutma işleminde rol oynar. Burada toplayıcı kanallardan idrarın konsantrasyonunu etkileyen medüller interstisyumdaki hipertonic gradyanı oluşturur (40).

Distal tübüllerde iyon değişimi gerçekleşmektedir. Aldosteron konsantrasyonu yeterince yüksek olduğunda distal tübüllerde sodyumun emildiği, potasyum iyonlarının dışarı verildiği bir iyon değişim bölgesi bulunur. Burası vücuttaki total su ve tuzları kontrol eden düzeneğin bulunduğu bölgedir. Distal tübül aynı zamanda tübüldeki idrara hidrojen ve amonyum iyonları sağlar. Bu etkinlik kanda asit-baz dengesinin korunmasında çok önemlidir. Toplayıcı kanalların epiteli arka hipofizden salgılanan antidiüretik hormona duyarlıdır. Su alımı azaldığında ADH salgılanır ve toplayıcı kanalların epiteli suya geçirgen hale geçer (40).

1.7.5. Böbreğin Fonksiyonları

Vücutta iç ortamın normal durumunun muhafazası (homeostasis) çok önemlidir. İç ortamın kimyasal yapısının değişmez tutulması, büyük ölçüde iki çift organ tarafından yapılır. Akciğer çifti oksijen, karbondioksit düzeylerini ayarlar. Böbrekler de diğer önemli bileşiklerden ve yabancı maddelerden çoğunun miktarını düzenler. Kanın pH'sının ayarlanmasında hem akciğerlerin hem de böbreklerin rolü vardır. İç ortamın böbreklerle ayarlanmasında üç olay işe karışır. Bunlar:

1. Filtrasyon: Kan plazması suyunun bir kısmının, içinde erimiş maddeleriyle birlikte, filtrasyon (süzülme) yoluyla çıkarılmasıdır. Kandan ayrılan süzüntünün terkihi, proteinler ve proteine bağlı maddeler hariç, kan plazmasının aynıdır.
2. Rezorbsiyon: Filtrasyon ile kandan ayrılan, fakat homeostasis için lüzumlu olan maddelerin kana geri emilmesidir.
3. Sekresyon: Vücut için yararsız veya zararlı olan atık ve yabancı maddelerin kandan alınıp tübülüs sıvısına verilmesidir (40).

Bunların dışında böbreklerin endokrin fonksiyonu bulunmaktadır. Eritropoietin, renin, prostaglandin, kalsitriol gibi hormonlar böbrekler tarafından üretilir. Ayrıca böbrekler; insülin, parathormon, glukagon ve aldosteron gibi hormonların yıkım bölgesidir (40).

1.8. Deksmetomidin

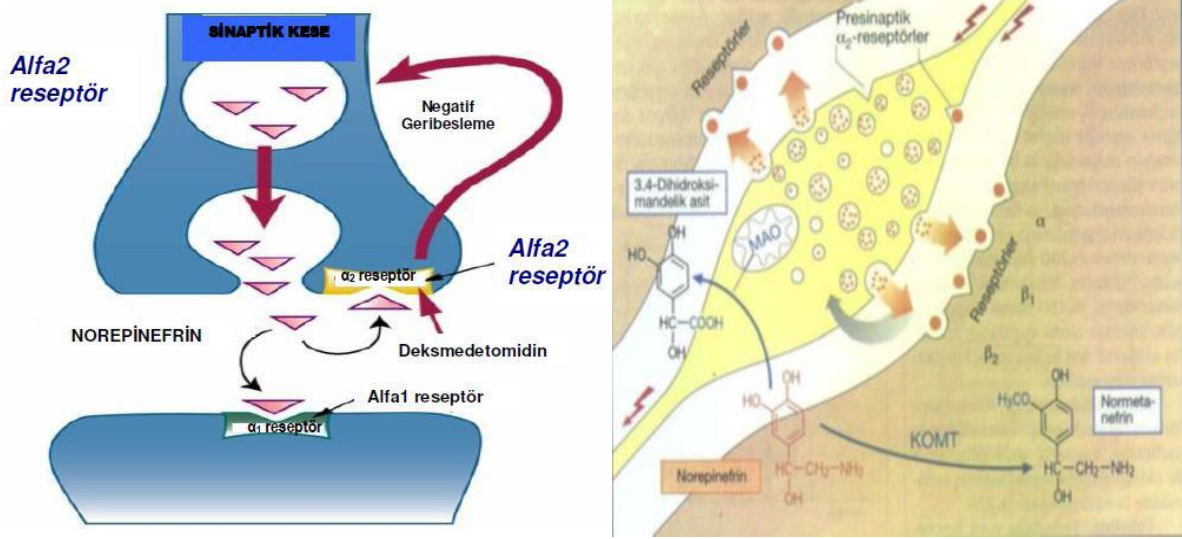
Deksmetomidin lipofilik yeni bir α -metilol derivesi olup geniş bir farmakolojik özellik spektrumuna sahip, güçlü ve ileri derecede selektif α_2 -adrenoseptör agonistidir. Anestezide premedikasyonda, ko-indüksiyonda, rejyonel anestezide ve yoğun bakımda koopere sedasyon amacıyla kullanılmakta ayrıca anksiyolizis ve solunum depresyonu olmadan analjezi sağlamaktadır (41).

1.8.1.Tarihçesi:

α_2 -adrenoseptör agonistlerinin anestetik olarak kullanımları yeni olmayıp veterinerler uzun zaman ksalazin ve detomidin'i hayvanlarda analjezi ve sedasyon amaçlı kullanmışlardır (42). Medetomidin ve onun stereoizomeri olan deksmedetomidin uygulanarak tam bir anestezinin mümkün olduğu yakın zamanda ortaya çıktı. Klonidin köpeklerde volatil anestezi ihtiyacını % 42 oranında azaltırken; çeşitli hayvan deneylerinde, yüksek dozda deksmedetomidinin tek başına yeterli anestezi sağlayabildiği ortaya konulmuştur. Deksmedetomidin'in FDA (Food and Drug Administration) tarafından 1999 yılında yoğun bakım ünitelerinde kısa süreli (<24 saat) analjezi ve sedasyon için kullanımı onaylanmıştır (43).

1.8.2.a Reseptör Fizyolojisi

Adrenerjik reseptörler temelde farklı fizyolojik preperatlardaki çeşitli doğal veya sentetik katekolaminlerin kuvvetlilik derecesine dayanarak α ve β reseptörler olarak ayrılırlar (şekil 3). Alfa(α) veya beta(β) reseptörlerin aktivasyonu bazı dokularda eksitasyon; bazılarında ise inhibisyon oluşturur. Alfa-1-adrenoreseptörler beyin, kalp, düz kas, karaciğer ve dalak dokularında bulunur. Alfa-adrenoreseptörler bütün vücutta yerleşmişlerdir. Nöroeffektör bileşkede alfa-1 adrenoreseptör agonistlerinin bağlanması; vazokonstriksiyon, glikojenoliz ve kalp hızında artış ile sonuçlanabilir. Sempatik sinir uçlarındaki alfa-2 adrenoreseptörlerin presinaptik aktivasyonu bir katekolamin olan noradrenalinin salınımını engellenir. Yapılan radyoligand bağlama çalışmalarında α_2 adrenoseptörlerin α_2A , α_2B α_2C ve α_2D subtipleri olduğu gösterilmiştir. SSS'deki çoğu adrenoseptörlerin nöadrenerjik yollar ile beyin sapında özellikle de beyinde predominant nöadrenerjik nükleus olan lokus seruleu'da yüksek reseptör dansitesi vardır (44).

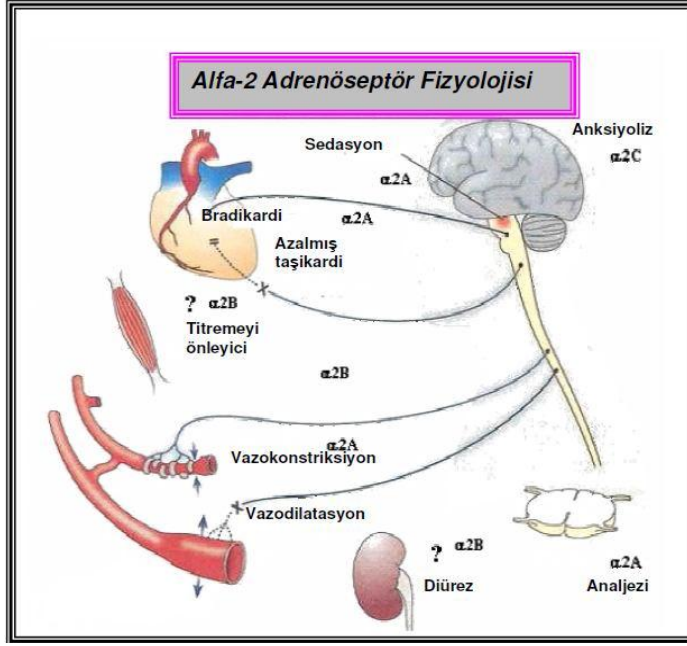


Şekil 3 A) α2-adrenoseptör agonist reseptörlerinin fizyolojisi B) Alfa-1 ve alfa -2 adrenoseptörlerin şematik görünümü (Kaynak: A- Mantz J. Dexmedetomidine. Drugs Today (Barc). 1999 ;35:151-7. B- Özbek SY.Etomidat ile Anestezi İndüksiyonunda, Midazolam ve Deksmetomidin Ko-İndüksiyonunun Karşılaştırılması. Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı.Uzmanlık Tezi. Şanlıurfa 2006)

1.8.3.Etki Mekanizması

Bir imidazol bileşiği (-4-5-[1-(2, 3-dimetil-fenil)etil]-1H-imidazol) olan deksmedetomidin, medetomidinin farmakolojik olarak aktif dekstroizomeridir ve güçlü, ileri derecede selektif α2-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.

Genel olarak presinaptik α2-adrenerjik reseptörün aktivasyonu norepinefrin salgılamını inhibe eder, ağrı sinyallerinin yayılımını durdurur. Santral sinir sistemindeki postsinaptik α2-adrenerjik reseptörün aktivasyonu ise sempatik aktivasyonu inhibe ederek kan basıncını ve kalp hızını düşürür. Deksmetomidin bu etkileri kombine ederek analjezi, sedasyon ve anksiyoliz oluşturur (45) (şekil 4) .



Şekil 4 α_2 -adrenerjik reseptörlerin aracılık ettiği cevaplar

(Kaynak: Gertler R, Brown HC, Mitchell DH, Silvius EN: Dexmedetomidine a novel sedative-analgesic agent. Proc 14:13-21,2001)

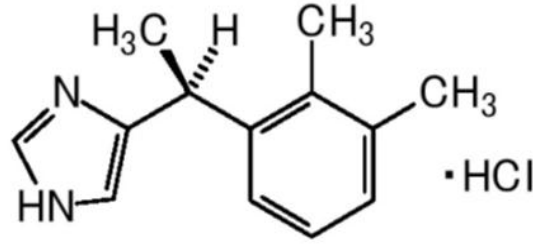
1.8.4. Deksmetomidinin Fizikokimyasal Özellikleri

Deksmetomidin, sulandırıldıktan sonra infüzyonu mümkün olan steril, nonpirojenik bir solüsyondur. Deksmetomidin HCl kimyasal olarak ([+]-4-[1-[2,3-dimethylphenyl]-ethyl]-1Himidazole) monoklorid şeklindedir (şekil 5) . Molekül ağırlığı 236.7'dir; Ampirik formülü $C_{13}H_{16}N_2 \cdot HCl$ şeklindedir. Beyazımsı bir toz olan deksmetomidin hidroklorid, sulandırıldığında, pH'ı 4.5-7.0 arasında olan berrak, renksiz, izotonik bir solüsyon haline gelir. İyonizasyon sabiti (pK):7.1 dir (41).

Deksmetomidin'in her 1mL'si, 118 mcg'lık deksmetomidin HCl (100 μ g baz deksmetomidine eşdeğer) ve 9 mg sodyum klorid içermektedir. Bu solusyonda koruyucu bulunmamaktadır ve solüsyon kimyasal stabilizatör içermez. Deksmetomidin, medetomidinin farmakolojik olarak aktif d-izomeridir. Medetomidin alfa-2-adrenoseptörler için selektivitesi olduğu gösterilen oldukça lipofilik bir ajandır. Alfa-2-adrenoseptörler uyarıldığında noradrenalin salınımını engeller, sempatik aktiviteyi inhibe eder, kan basıncını ve kalp hızını azaltır ve sedasyon, anksiyoliz ve analjeziye yol açar (45).

Faz III sedasyon çalışmaları sonucu deksmetomidinin analjezik özelliklere sahip bir alfa-2 agonist sedatif olduğunu göstermiştir. Deksmetomidin 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. Deksmetomidin kullanımı hafif ve tahmin edilebilir hemodinamik değişikliklere eşlik eder (45).



Şekil 5: Deksmetomidin kimyasal yapısı

1.8.5 Deksmetomidin Farmakokinetiği

Deksmetomidin alfa-1 adrenoreseptörlere kıyasla, spesifik ve selektif olarak 1600:1 oranında alfa-2 adrenoreseptörler üzerinde etki yapmaktadır. Deksmetomidin farmakokinetiği cinsiyet ve yaşa bağımlı olarak değişiklik göstermez (45).

1.8.5.1. Dağılım:

Deksmetomidin, infüzyonu takiben hızlı bir dağılım fazı gösterir. Dağılım yarı ömrü 6 dakikadır. Sabit durum dağılım hacmi yaklaşık olarak 118 L'dir. Karaciğer bozukluğu olanlarda proteine bağlanmada değişiklikler oluşabilir ve düşük klirense neden olur. Ortalama proteine bağlanma oranı % 93.7' dir (46).

1.8.5.2. Eliminasyon:

Deksmetomidin karaciğerde yoğun biyotransformasyona uğrar. İdrarla % 95 ve feçesle % 4 oranında atılır. Temel metabolitler N-glukuronitler (G-DEX-1 ve G-DEX-2) ve N-metil-Oglukronittir. Termal eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 2 saattir. Bu klirense eşlik eden ortalama vücut ağırlığı 72 kg'dır. Toplam vücut klirensi tahminen 39 L/saattir. Bilinen aktif metaboliti yoktur ve inaktif levo-enantiomer olan deksmedetomidinin dönüşümü minimaldir ve klinik önemi yoktur. Deksmetomidin hızlı bir sedasyon başlangıcı sağlamaktadır, bu etki

infüzyonların süresi boyunca sabittir. Uygulanan doz ile ulaşılan konsantrasyon sabit ve yaklaşık olarak doğrusaldır (46).

İlacın fazla miktarda ilk geçiş eliminasyonuna uğraması nedeniyle oral biyoyararlanımı oldukça azdır. Subkutan veya im veriliş sonrasında deksmedetomidin hızla absorbe edilir. Artan dozlarla orantılı olarak pik plazma konsantrasyonu artmakla birlikte farmokinetiğinde doğrusal olmayan bir biçimde doz-konsantrasyon eğrisi vardır. Tek doz im veriliş sonrası biyoyararlanım iv dozun yaklaşık %60 'dır. Ortalama eliminasyon yarı ömrü 0.68–1.31 saattir ve yüksek im dozlarda artma eğilimi göstermektedir. Deksmetomidine serum albumin ve α 1-glikoproteine %95 oranında sıkı bağlanır. Proteine bağlanma kadın ve erkeklerde benzerdir. Plazma proteinlerine bağlanan deksmedetomidin hidroklorür fraksiyonu hepatic yetmezliği olan hastalarda sağlıklı hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalmamıştır (46).

1.8.6. Deksmetomidin Farmakodinamiği

Alfa-2 adreseptörler, santral sinir sistemi, periferik sinirler (somatik ve otonomik) ve otonomik gangliyonlarda bulunurlar. α 2 selektivitesi, düşük ve orta büyüklükteki dozların (10-300 μ g/kg) yavaş olarak verilmesiyle gösterilmiştir. Çok yüksek dozlarda (> 1000 μ g/kg) veya daha düşük dozların hızlı infüzyonunda α 2 ve α 1 aktivitesi görülmüştür. Moleküler, biyolojik ve radyonükleik binding teknikleri kullanılarak yapılan araştırmalarda α 2-adreseptörlerin üç ana tipi tanımlanmıştır. Bunlar alfa2A, alfa2B, alfa2C reseptörleridir. Bu üç subtip G-proteine bağlı reseptörlerdir. Bu reseptörlerin inhibisyonu veya aktivasyonu, adenilat siklaz ve cAMP ile kalsiyum kanallarını inhibe, potasyum kanallarını hiperpolarize ederek oluşmaktadır. Norepinefrin salınımının düzenlenmesinden alfa2A subtipi sorumlu tutulmaktadır (46).

İn situ hibridizasyon tekniği kullanılarak santral sinir sisteminde alfa2-adreseptör subtipleri araştırılmıştır. Alfa2B reseptörleri talamusta, alfa2C subtipleri beyinde geniş alanlara yayılmış, alfa2A subtipi de locus ceruleusta yüksek oranda bulunmuştur. Bu reseptörler, lokalize oldukları alanlarda nonadrenerjik aktivite gösteren hücreleri inhibe etmektedirler. Alfa2A reseptörleri hem presinaptik hem postsinaptik nöronal uyarılabilirliği ve norepinefrin salınımını inhibe ederler (46).

1.8.7 Deksmetomidinin Klinik Etkileri

Deksmetomidine prelinik olarak potent, nonselektif α_2 -adrenoseptör agonisti ilaç olarak tanımlanmıştır. Klonidinin parsiyel agonistik etkilerine rağmen deksmetomidine tam agonistik aktiviteye sahiptir (46) .

1.8.7.1.Kardiyovasküler Sistem Etkileri:

α_2 -agonistlerinin kardiyovasküler sistem üzerine temel etkileri kalp hızında azalma, sistemik vasküler rezistansta azalma ve dolaylı olarak miyokardın kontraktilesi, kardiyak output ve sistemik kan basıncında düşmedir (46).

Organizmada rahatsız edici bazı stimuluslara karşı stres cevap oluşmakta ve sempatik sinir sistemi aktive olup, plazma katekolamin seviyesi artmaktadır. 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 sempatolitik etkisi ile doza bağımlı olarak plazma norepinefrin konsantrasyonunda düşme ve bunun sonucunda yine doza bağımlı olarak kalp hızı ve kan basıncında azalma yapar (47). İnsanlarda deksmetomidinin bolus dozunun hemodinamik etkileri bifazik cevap şeklinde ortaya çıkmaktadır. Deksmetomidinin 2 μ 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 deksmetomidinin periferik α_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 (48).

Plazma norepinefrin konsantrasyonları periferik sinir sonlanmalarında salınan transmitterlerin indirek göstergesidir. Deksmetomidin sempatolitik etkileri plazma norepinefrin konsantrasyonları ölçülerek değerlendirilmiştir. Deksmetomidin plazma norepinefrin konsantrasyonunu doza bağımlı olarak azaltır ve doza bağımlı olarak kalp hızı ve kan basıncını azaltır. Bununla birlikte deksmetomidin hızlı i.v verilmesi kan basıncında geçici bir artış oluşturur. Bu etki muhtemelen vasküler düz kasta bulunan periferik α_2 -adrenoseptörlerin

aktivasyonunun tetiklediği vazokonstriksiyona bağlı olabilir. Kan basıncındaki bu artış kalp hızında %25 oranında azalması ile birliktedir (46).

1.8.7.2.Sedasyon:

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. Deksmedetomidin faz 3 çalışmalarda klinik olarak etkili bir sedasyon sağlamıştır. Günümüzde deksmedetomidin hipnotik ve sedatif etkilerinin bir inhibitör pertussis toksin duyarlı G proteini ve potasyum kanalları boyunca iletim artışını içeren postsinaptik α_2 -adrenoseptör aracılı etkileşim sonucu olduğuna inanılmaktadır. Deksmedetomidinin hipnotik ve sedatif etkileri predominant noradrenerjik nükleus ve uyanıklığın önemli düzenleyicisi olan locus coreleus'a olan etkisine bağlanmaktadır (41).

Deksmedetomidinin tüm etkileri, sedasyon ve sempatolitik etkileri bir α_2 adrenerjik antagonisti olan “atipamezol” uygulanarak kolaylıkla geri çevrilebilmekte olup; atipamezolün yarı ömrü de 1, 5-2 saattir (49).

1.8.7.3.Analjezik etkileri

Deksmedetomidin analjezi oluşturan, santral ve periferik mekanizmalarla hemodinamik stresi azaltan etkileri nedeniyle postoperatif ağrı tedavisinde kullanılabilir bir ajan gibi görülmektedir. α_2 adrenerjik agonistlerin opioid analjezisini potansiyalize ettikleri gösterilmiştir. Çok selektif α_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. α_2 agonistler morfinin analjezik etkisini potansiyalize ederler ve cerrahi sonrası analjezik kullanımını %10-15 oranında azaltırlar. Bu etki sempatik sinir uçlarında ve spinal kordda adrenoseptörlerin stimülasyonu sonucu olabilir. Deksmedetomidinin analjezik koruyucu etkisi preemtif analjezik etki veya rezidüel additif etki ile açıklanabilir. Birçok çalışmada deksmedetomidin ve medetomidinin doza bağımlı analjezi oluşturdıkları gösterilmiştir (41).

1.8.7.4.Solunum Sistemine Etkileri

Deksmedetomidinin ilginç bir özelliği de benzodiyazepin veya opiyoidler gibi diğer sedatif ajanlarla karşılaştırıldığında minimal solunum depresyonu oluşturmasıdır. Deksmedetomidin spontan soluyan sedatize hayvanlarda solunum üzerine etkisizdir veya çok az etki etmektedir.

Uyanık köpeklerde iv 1.25-5 mcg/kg deksmedetomidin arterial kan gazlarında bir değişiklik oluşturmaksızın solunum hızında orta derecede bir azalma yapar (44).

1.8.7.5.Anestezik İhtiyacını Azaltıcı Etkisi

Deksmedetomidinin anestezik ihtiyacını azalttığına dair birçok yayın mevcuttur. Cerrahi sırasında deksmedetomidin infüzyonun plasebo ile karşılaştırıldığı çift kör bir çalışmada, deksmedetomidinin izofluran ihtiyacını azalttığı gösterilmiştir (50). Deksmedetomidin anestezi indüksiyonunda barbiturat ihtiyacını azaltmıştır (49). Alfa 2-adrenerjik agonistler anestezi için değerli olan birçok özellikler taşımaktadırlar. Ancak insanlarda anestezik konsantrasyonlarda görülen kardiyovasküler etkileri (hipotansiyon ve bradikardi) onların primer bir anestezik ajan olarak kullanılmalarını önlemektedir. Bu yüzden onların anesteziadaki rolü anestezik ilaçlara bir adjuvan olmakla sınırlanmaktadır (46).

1.8.7.6.Diğer Sistemlere Etkileri

Deksmedetomidin gönüllülerde yapılan bir araştırmada 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 eksitator aminoasit artışını önlememiştir (51).

Deksmedetomidin postoperatif dönemde terleme sıklığını azalttığı görülmüştür. Ayrıca deksmedetomidin lokal anestezi ile katarak cerrahisi geçirecek hastalara operasyondan 45 dk önce 2µg/kg im deksmedetomidin verilmesinin intraoküler basıncı %35 oranında düşürdüğü bulunmuştur.

Bu çalışmada kısa etki süreli sedasyon ve minimal kardiyovasküler yanıtlar gözlenmiştir. Deksmedetomidin sıklıkla salivasyonu azaltır. Doza bağlı olarak büyüme hormonu sekresyonunu, plazma renin aktivasyonunu ve prolaktin seviyesini etkilemeksizin

arttırmıştır. Teorik olarak α 2-agonistler plateletlerin agregasyonunu artırırklar. Klinikte buna ilişkin delillere rastlanmamıştır (51).

1.8.8 Uygulama ve Dozaj

Deksmedetomidin kontrollü infüzyon cihazı kullanılarak uygulanmalıdır. Dozu kişiselleştirilmeli ve arzulanan klinik etkiye göre titre edilmelidir. Yetişkin hastalar için 10 dk boyunca 1mcg/kg'lık bir yükleme infüzyonu ile başlatılmalı, ardından 0.2-0.7 mcg/kg/sa'lik bir idame dozu verilmelidir. Deksmedetomidin uygulama öncesi %0,9'luk sodyum klorür solüsyonu ile dilüe edilmelidir. Dilüsyondan sonra hemen kullanılmalı ve 24 saat geçmişe atılmalıdır (51).

1.8.9. Yan Etkileri

Deksmedetomidinin teratojenik etkileri henüz çalışılmamıştır, fakat ilaç plasentayı geçmektedir. Deksmedetomidinin yan etkileri hipotansiyon, hipertansiyon, bulantı, bradikardi, atriyal fibrilasyon ve hipoksiyi içermektedir (91). 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 bağlı değişiklikler veya çekilme sendromu deksmedetomidinde de beklenebilir(45).

1.9. Curcumin

Curcuma longa, Hindistan ve Çin'de yaygın olarak bulunan Zingiberaceae ailesine ait bir bitkidir. Curcuma longa tropik iklimlerde ve Hint yarımadası boyunca doğal olarak yetişir. Kısa saplı uzun ömürlü bir bitki olup boyları 100 cm e kadar büyüyebilir. Eğri, oval veya dikdörtgen şeklinde yapraklar ile güzel canlı beyaz çiçekler ve silindirik rizomlara sahiptirler. Bu bitkinin köklerinden elde edilen turmerik Hindistan'da yüzyıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. Turmeriğin aktif maddesi olan curcumin [(CUR) (difuruloylmetan)] gıda endüstrisinde katkı maddesi, tatlandırıcı, koruyucu ve renklendirici ajan olarak hardal, margarin, meşrubat veya içeceklerde ayrıca portakal sarısı rengi ile gıda boyası olarak da kullanılmaktadır. Çok iyi bilinen ve sıklıkla kullanılan köri baharatının da ana komponentidir (52).



Resim 1 A. *Curcuma longa* bitki hali; B. Taze köksapı ve C. Kurutulmuş toz hali (Kaynak:

Curcumin: An Anti-Inflammatory Molecule from a Curry Spice on the Path to Cancer Treatment Basnet P,Skalko-Basnet N. Molecules 2011, 16, 4567-4598; doi:10.3390/ molecules16064567)

Günümüzde, geleneksel tedavi amacıyla kullanılan, bitkisel kökenli bileşiklerden biri olan ve geçmişte sonsuz hayat kaynağı olarak adlandırılan curcuminin (Turmeric) tarihi 5000 yıl öncesine kadar dayanmaktadır. İlk olarak Marco Polo'nun 1280 yılında Hindistan ve Çin'e yaptığı seyahatler sırasında yazdığı notlarda adı geçen Turmeric, Avrupa'ya 13. yy. da Arap seyyahlar tarafından getirilen ve curcumin içeren bir baharattır (53). *Curcuma longa* bitkisinin, kök ve sap kısımlarının kurutulup toz haline dönüştürülmesiyle elde edilen, Hindistan'da Haldi olarak adlandırılan bu bitki, curcumin bileşiğinin temel kaynaklarından (52).

Curcuma atıfta bulunarak ilk kaydedilen bilimsel makale 1748 yılında yayınlanmış olup tumeric ile ilgili ilk farmakolojik inceleme ise 67 yıl sonra ortaya çıkmıştır (106). Yüzyıllardır romatizma, vücut ağrıları, cilt hastalıkları, yaralar, bağırsak solucanları, ishal, aralıklı ateş, karaciğer bozuklukları, huysuzluk, üriner deşarjı, dispepsi, kabızlık, leukoderma, amenore ve kolik iltihabı gibi hastalıkların bir çeşitlilik tedavisi için geleneksel bir ilaç olarak, yaygın olarak kullanılmaktadır (52).

İlk olarak Vogel ve Pellatier tarafından 1815 yılında $C_{21}H_{20}O_6$ olarak formüle edilen curcumin, daha sonra 1910 yılında, Lampe ve arkadaşları tarafından diferuloylmethane olarak adlandırılmaya başlamış ve Lampe ve Milobedzka tarafından 1913 yılında bileşik ilk olarak üretilmiştir (54).

1.9.1. Curcumin Kimyasal Yapısı

1.9.1.1. Metabolizması

CUR suda çözünmez, hücre membranının hidrofobik yapılarında lokalize olur. CUR yapısı nedeniyle hücrelere hızlıca penetre olur, plazma membranından hızlıca geçip sitozole

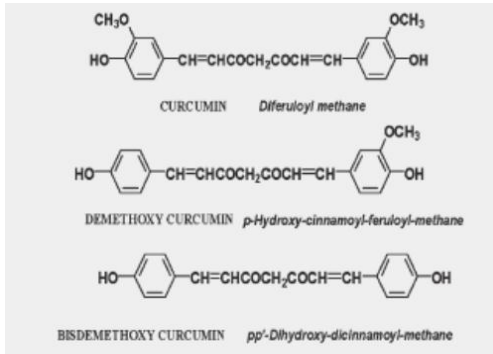
girer. Lipofilik özelliklerinden dolayı plazma membranı, endoplazmik retikulum ve çekirdek kılıfı gibi membranöz yapıların içinde toplanmaktadır. CUR sistemik dolaşımında çok düşük düzeyde olur veya hiç bulunmaz.

Tetrahydrocurcumin, CUR'un barsaklardan emilimi sırasında renksiz ve daha az polar olan metabolitidir. Tetrahydrocurcumin barsaklardan emilerek tüm dokulara dağılmaktadır. Tetrahydrocurcumin karaciğerde glukuronik asitle işlenerek safra yolu ile atılmaktadır. Ağızdan alınan CUR'un yaklaşık % 75'i feçesle, geri kalan kısmı idrarla atılmaktadır. İntraperitoneal uygulamalarda da vücuttan atılımı benzerdir (55).

1.9.1.2.Moleküler Özellikleri

CUR genel olarak doğal ve yapay CUR şeklinde sınıflandırılmaktadır. CUR, demetoksicurcumin, bisdimetoksicurcumin doğal olarak bulunan bileşiklerdir (Şekil 6) (56).

Suda çözünmeyen CUR, etanol, keton, asetik asit ve kloroformda çözünür. Ticari CUR aseton içinde eritildikten sonra kromatografik yöntemle subfraksiyonlara ayrılarak %77 CUR, %17 dimetoksicurcumin ve %3 bisdemetoksicurcumin izole edilir (56).



Şekil 6. Curcumin Ve Bileşikleri

1.9.2.Curcuminin Antioksidan Etkileri

Curcuminin antioksidan özellikleri böbrek, kalp, beyin dokusu ile karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında oksidatif stresi ve doku hasarlanmasını azalttığı gösterilmiştir. CUR antioksidan etkinliğini XD'nin XO ya dönüşümünün önlenmesi, lipid peroksidasyonu oluşumunun engellenmesi ve iskemik ortamda bulunan SOR'ları toplayarak gösterir. CUR KAT, SOD ve GPx enzimlerinin aktivitelerini artırarak hücre zarında bulunan lipidlerin peroksidasyonunu azaltır (56).

Curcuminlerin yapısındaki fenolik ve metoksi gruplarının serbest radikallerle reaksiyona girmesiyle fenoksil radikali oluşmaktadır. Ayrıca CUR'in primer metaboliti tetrahidrocurcumin, antioksidan β diketo etki ile birlikte 2 karbonil arasındaki aktif metilen karbonundaki C-C bağına yıkararak antioksidan etki yapar. Bu antioksidan etkileriyle SOR oluşumunu doğrudan veya XD/XO dönüşümünün inhibisyonu ile dolaylı etkileyerek olmaktadır. Ancak CUR'un diğer hasar veren hidroksil radikalleri veya peroksinitrit üzerindeki etkisi henüz aydınlatılamamıştır. Kronik enflamasyon ve sitokinler NO sentezini indükleyerek DNA hasarına ve kansere yol açan peroksinitrit ve nitrit oluşumuna yol açmaktadır. Yapılan pek çok çalışmada curcuminin NO sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir (57).

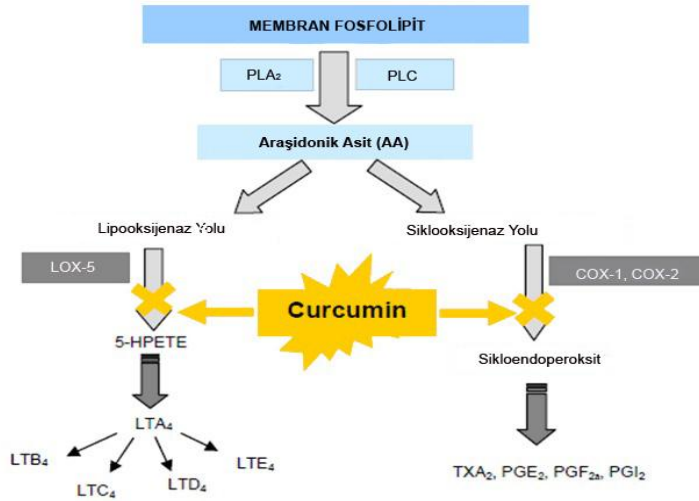
Oksidatif stresler miyokard iskemisi, serebral iskemi reperfüzyon hasarı, hemoraji ve şok, nöronal hücre hasarı, hipoksi ve kanserde en büyük role sahiptir. Curcuminin, Vitamin C ve E ile karşılaştırılabilir antioksidan aktivitesi mevcuttur. Birçok reaktif oksijen radikallerini özellikle de süperoksit anyon radikallerinin, nitrojen dioksit radikallerinin ve hidroksil radikallerinin atımını kolaylaştırır (56). Vasküler endotelial hücrelerde oksidanların aracı olduğu zararı azaltır. Ayrıca lipid peroksidasyonunu da birçok hayvan modelinde inhibe etmektedir. İskemiye bağlı hasarı fare, kedi ve tavşan modellerinde miyokard üzerinde azaltır. Karaciğer iskemik hasarında artan Serum Aspartat Transaminaz düzeyleri Curcumin ile tedavi edilmiş hayvan modellerinde azalır. Curcuminin diyetle eklenmesi ile nörodegeneratif hastalıklardan olan Alzheimer hastalığından korunulmuş olunur. Fare fokal serebral iskemi modellerinde Curcumin belirgin nörokoruyucu etkinliği; lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi, endogen antioksidan savunma enzimlerini artırması ve peroksinitrit (OONO-) oluşumunu azaltması ile oluşmaktadır (58).

Yüksek glikoz konsantrasyonu oksidatif stres ile birlikte lipid peroksidasyonu ve proteinlerin glikozilasyonu artmaktadır. Bu, glikozun otooksidasyonu ile ortaya çıkan aşırı oksijen radikal oluşumu, glikozile olmuş proteinler veya sitokrom P-450'e benzer aktivite ile glikoz metabolizmasında NADPH'in aşırı üretimi ile olmaktadır. Curcumin kırmızı kan hücrelerinde proteinlerin glikolizasyonu ile lipid peroksidasyonunu yüksek glikoza maruz kalımda azaltmaktadır. Curcumin, farelerde Streptozotosin ile oluşturulmuş diabetes mellitusta serbest oksijen radikali oluşumu azaltılmıştır. Curcuminin hücrel oksidatif stres baskılanmasının temeli halen net olarak bilinmemektedir. Fakat Glutatyon redüktaz veya diğer bazı antioksidatif enzimler ile oksijen radikallerini etkisizleştirme işini yüksek glikoz

değerlerinde yaptığı söylenebilmektedir. Vasküler inflamasyon ve kardiovasküler hastalıklar, diabetik populasyonlarda morbidite ve mortalite için önemli bir etkidir.

Kolesterol ile beslenmiş tavşanlarda koruyucu etkisinin yanında, H₂O₂ ile uygulanmış insan renal epitelyal (LLC-PK1) hücrelerinde de hücre koruyucu etkisi gösterilmiştir.(59)

Oksidatif stress ve oksidatif hasara neden olan reaktif oksijen türleri birçok kronik inflamasyonun ve dejeneratif hastalığın patofizyolojisinde yer almaktadır. Serbest radikallerin sorumluluğu esasen reaktif oksijen türleri üzerinedir. COX; Araşidonik Asid, Tromboksan ve Prostaglandin metabolizmasının anahtar enzimidir. 2 farklı isoforma sahiptir. COX-1 dokuların büyük kısmında varolup evin hanımı da denilebilir. Baskılanması halinde peptik ülser veya renal kan akımında yetersizlikler oluşabilir. Farklı olarak beyin ve spinal kord dokusunda eksprese olmakta, geniş çeşitlilikteki normal dokuları ovulasyon ve hamilelikte hormonlar yolu ile sitokinler, büyüme faktörleri, onkogenler ve tümör uyarıcılar üzerinden etkili olmaktadır. COX-2 aşırı ekspresyonunda kolon, rektum, meme, baş-boyun, akciğer, pankreas, mide ve prostat tümörlerinde karsinogenezis gözlenebilmektedir. Curcuminin COX-2 uyarımını baskılaması in vitro şartlarda ağız ve kolon epitel hücrelerinde gösterilmiştir. Böylelikle inflamatuvar prostaglandinlerin sentezini baskılar (59). (Şekil 7)



Şekil 7 Curcuminin araşidonik kaskadı üzerine inhibitör etkisini gösteren şema. (Kaynak: Curcumin: An Anti-Inflammatory Molecule from a Curry Spice on the Path to Cancer Treatment Basnet P,Skalko-Basnet N. Molecules 2011, 16, 4567-4598; doi:10.3390/ molecules16064567)

Curcumin yara iyileşmesinin erken dönemlerinde Nitrik Oksit üretimini artırmaktadır. Ex-vivo çalışmalarda makrofajların uyarılabilir NO Sentetaz aktivitesi curcuminin 1–20 IM konsantrasyonlarında artmaktadır. NO üzerinden cGMP aracılığıyla trombositlerin aggregasyonunu ve adezyonunu inhibe ederek trombus oluşumunu engeller (Şekil 8) (60).

Şekil 8 Curcuminin inflamator medyatörler üzerine etkileri.
(Kaynak: Glen et all. Curcumin: The potential for efficacy in gastrointestinal diseases. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology 25 (2011) 519–534)



1.9.3. Curcumin'in Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkisi

Zerdeçalın lokal uygulaması Hindistan'da cilt hastalıklarında, böcek ısırıklarında ve su çiçeğinde kullanım görmektedir. Uzun yıllardır yara iyileşmesinde alternatif tıbbi destek olarak kullanılmaktadır. Curcumin ile tedavi edilmiş yaradaki miyofibroblastlarda yara kontraksiyonu daha hızlı olmaktadır. Curcumin tedavisi sonucunda fibronektin (FN) ve kollagen ekspresyonu artmaktadır. Ayrıca granülasyon dokusunun oluşumu ile neovaskularizasyon, reepitelizasyonu diabetik ve hidrokortizon ile oluşturulmuş fare yara modellerinde artırmaktadır. Curcuminin insan keratinositlerinde ve fibroblastlarında hidrojen peroksida bağlı hasarı azalttığı gösterilmiştir (61). Jagetia, vücut yarımını multiple fraksiyone dozlarda iradiye ederek İsveç albino farelerinde yara iyileşmesine bakmış; radyasyon maruziyeti sonrası 4, 8, 12.inci günlerde incelenen hayvanlarda doza bağımlı yara kontraksiyonları ve yara iyileşmeleri değerlendirmiştir. Tedavi öncesi uygulanan curcuminin yara kontraksiyonunda belirgin artış ile ortalama yara iyileşme zamanını kısalttığını

göstermiştir. Curcumin tedavisi ile radyasyon öncesi kollagen, heksozamin, DNA, nitrat, nitrit sentezi artmış yara biopsilerinde ise kollagen birikimleri, fibroblast ve vasküler yoğunluklarda da artış saptamıştır (62).

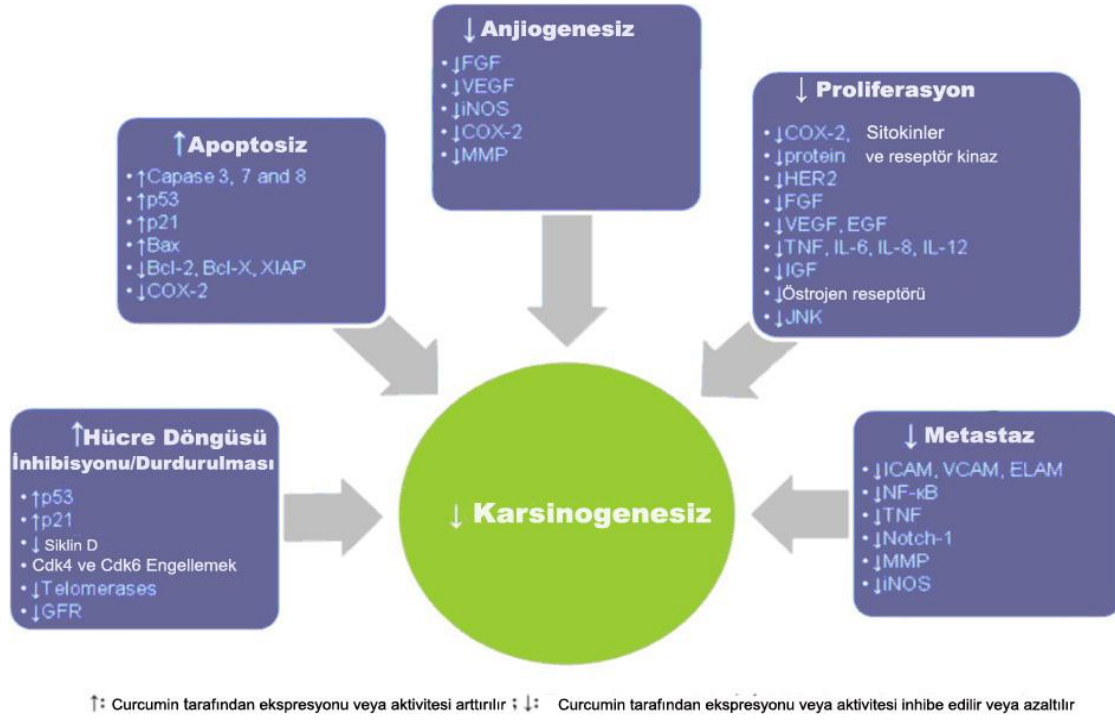
1.9.4. Curcumin'in Angiogenezi Düzenleyici Etkisi

Angiogenezi, yeni vasküler kapiller kanalların oluşumu ile karakterize fizyolojik bir süreçtir. Bu basamaklar embriyonik gelişimden, üretim süreçlerine, yara iyileşmesinden kemik iyileşmesine dek uzamaktadır. Diğer taraftan da kontrol edilmemiş angiogeneze bağlı olan birçok patolojik durum da mevcuttur. Tümör büyümesi, Romatoid Artrit, Diabetik Retinopati ve hemanjiomlar sayılabilir. Son 30 yılda primer tümörün büyümesinde ve onun uzak organ metastazlarında angiogenezin etkin bir rolü olmasıyla ilgili yoğun çalışmalar yapılmıştır (63). Kontrolsüz anjiogenezin düzenleyicisi olarak birçok modelde Curcumin kullanımı faydalı olmuştur. Laboratuvar şartlarında İnsan Umbilikal Ven Endotelial hücrelerinde, fare oral mukoza hücrelerinde ve tavuk korioallantoik membran hücrelerinde Curcumin ile angiogenik farklılaşma inhibe edilmiştir (64). Farklı bir çalışmada temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) uyarısı ile korneal neovaskularizasyon fare korneasında inhibe edilmiştir. Bu etki, Curcumin analoglarının angiogenezi ile ilişkili genlerin aşırı ekspresyonunu azaltması ile açıklanabilir. Curcumin ve analogları metalloproteinazları inhibe ederek tümörel dokularda angiogenezi azaltırlar (65).

1.9.5. Curcumin'in Anti-kanser Etkisi

In vivo ve in vitro çalışmalarla inhibitör etkisini karsinogenezin üç basamağında da; tümör artışı, angiogenezi ve tümör büyümesinde etkilidir. Curcumin mitogen uyarımlı kan mononükleer hücrelerinin çoğalmasını baskılamakta; nötrofil aktivasyonunu inhibe etmekte, lenfositik reaksiyonlarda ve serumla uyarılmış veya trombosit kaynaklı büyüme faktörlerine bağlı düz kas hücrelerindeki mitogenezi baskılamaktadır. Son çalışmalarla Curcuminin doza bağımlı birçok hayvanda tümöre karşı kimyasal koruyucu olduğu gösterilmiştir. Bu koruyuculuk kolon, duodenum, mide, ösefagus, prostat ve oral kanserlerde gösterilmiştir. Curcuminin antikarsinojenik ve kimyasal koruyucu etkisinin moleküler temeli transkripsiyon faktörleri, büyüme düzenleyicileri adhezyon molekülleri, apoptotik genler, angiogenezi düzenleyicileri ve hücre sel sinyal molekülleri üzerinden olduğu kabul edilmektedir. Curcumin Siklooksijenaz enzimlerini, protein kinaz C'yi ve protein tirozin kinazları son olarak da araziidonik asit metabolizmasında sitozolik fosfolipaz A2 fosforilasyonunu bloke

etmesi antiinflamatuvar ve antikarsinojenik etkilerine katkıda bulunur. Melanom, baş-boyun Epidermoid kanseri hücrelerinin apoptozunu da uyararak koruyucu etki göstermektedir (66).



Şekil 9 Curcuminin karsinogenesisiz hücrel medyatörleri üzerine etkisi. (Kaynak: Glen et all. Curcumin: The potential for efficacy in gastrointestinal diseases. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology 25 (2011) 519–534)

1.9.6. Curcumin'in Antimikrobiyal Etkinliği

Yiyeceklerde ve giyim ürünlerinde renk verme amacının dışında E.Coli ve S.Aureus'a karşı bakterisidal etkinlik göstermesi nedeniyle önerilmiş ve bu etkinliği mikrobiyolojik olarak da ispatlanmıştır. İnsan immun yetersizliği (HIV) tip 1 ve tip 2'de de Antiviral, Antimalaryal, Antifungal, Anti-protozoal(Leishmania major) etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Antimikrobiyal ajan olarak da halen Hindistan'da kullanılmaktadır(52).

Güvenlik: İntraperitoneal Curcumin (0.1g/kg)'in farelerde ilk olarak dihidro ve tetrahydrocurcumine biotransforme olduğu sonraki aşamada ise dakikalar içerisinde monoglukuronit ürünlerine dönüştüğü gösterilmiştir. Serum curcumin konsantrasyonları en yüksek oral alımın ardından 1–2 saat sonra saptanılmış ve daha sonra 12 saat içinde de kademeli olarak azaldığı gösterilmiştir.

Curcuminle yapılmış hayvan çalışmalarında 5 g/kg'ın üzerindeki dozlarda bile toksisite bulgularına Sprague-Dawley ratlarında rastlanılmamıştır. Sistemik prelinik çalışmalarda Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü Korunma Bölümünde ratlarda, köpeklerde maymunlarda 3.5 g/kg üzerindeki dozlarda 3 aydan uzun kullanımda yan etki saptanmamıştır. Tayvan'da yapılmış diğer yüksek doz Curcumin çalışmasında 8 g/gün 3 ay boyunca pre-invaziv malign veya yüksek riskli premalign durumlarda kullanılmış toksisiteye rastlanılmamıştır. Diare ve karın ağrısı, Curcumine bağlı 2 gastrointestinal yan etki olup; bunlar ilaç toksisitesinden çok hastalığın ilerleyişine bağlanılmıştır.

2. MATERYAL METOD

Harran Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun 30.04.2012 tarih 003/2012 kayıt numaralı onayı sonrasında çalışma yapıldı. Ortalama ağırlıkları 180-240 gr. olan 50 adet Wistar-albino cinsi dişi sıçan randomize olarak eşit sayıda (n = 10) 5 gruba ayrıldı. Sıçanlar deney süresince 12'şer saatlik aydınlık-karanlık ışıklandırması olan ısısı 20-22⁰C ve nemi %45-%50 otomatik olarak ayarlanan odalarda yaşatıldı. Bu süreçte tüm sıçanlar şeffaf kafeslerde tutuldu, standart sıçan yemi ile beslendi ve çeşme suyu verildi.

2.1. İskemi Reperfüzyon Hasarı Modeli

Deneyde kullanılacak tüm sıçanlara 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 alınarak ratların sol alt ekstremiteleri elastik bandaj ile sarıldıktan sonra satürasyon kaybı ve renk değişikliği sağlandı (67) . 4 saatlik iskemi periyodundan sonra 2 saat reperfüzyon uygulandı. 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 total oksidan (TOS) ve antioksidan seviye (TAS) ölçümü yapılmak üzere biyokimyasal incelemeye gönderildi. Ratlara anestezi altında dekapitasyon uygulandı. Böbrek numuneleri alınıp histopatolojik inceleme yapıldı.

2.2 Curcuminin Hazırlanması

Curcumin %1 lik dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılarak eritilip intraperitoneal enjeksiyon için hazırlandı.

2.3 Deney Grupları ve Protokol

Beş grup oluşturuldu.

Grup 1 (Sham, n=10): Çalışma boyunca anestezi uygulaması dışında hiçbir 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, 200 mg/kg Curcumin, n=10): Anestezi sonrası sol alt ekstremiteye turnike ile 4 saat iskemi ve 2 saat reperfüzyon uygulandı, turnike açılmadan 5 dakika önce 200 mg/kg, ip olarak verildi. Reperfüzyon süresinin bitimine uyan saatte doku ve kan örneği alındı.

Grup 4 (İ/R, 25mcg/kg deksmedetomidin, 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, ip olarak verildi. Reperfüzyon süresinin bitimine uyan saatte doku ve kan örneği alındı.

Grup 5 (İ/R, 25mcg/kg deksmedetomidin ve 200 mg/kg Curcumin, 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 200 mg/kg Curcumin, ip olarak verildi. Reperfüzyon süresinin bitimine uyan saatte doku ve kan örneği alındı.

2.4. 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.

2.5. Histopatolojik Skorlama

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

2.6.Total Antioksidan Seviye (TAS)

Total antioksidan kapasite Erel yöntemi ile ölçüldü . Bu ölçüm yönteminde 2,2' - azinobis - (3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid) radikali (ABTS radikali) kullanılmaktadır. ABTS radikali, antioksidan konsantrasyonuna ve antioksidan kapasiteye göre mavi ve yeşil rengini kaybetmektedir. Bu renk değişikliği, absorbans değeri 660 nm'de ölçülerek değerlendirme yapılmaktadır. Bu ölçüm metodunun prensibi hidrojen peroksit varlığında ABTS molekülünün ABTS+ molekülüne okside olmasına dayanmaktadır. 30 mmol/L asetat tamponu ve pH: 3,6'da koyu yeşil renkte olan radikalın, asetat tamponu 0,4 mol/L, pH: 5,8 olduğunda rengi açılmaktadır. Renk değişimi ile örnek içindeki antioksidan miktarı arasında ters ilişki bulunmaktadır. Reaksiyon hızı standart yöntem olan Trolox ile kalibre edilmektedir.

Birimi Trolox equivalent/L .

Reaktiflerin hazırlanması:

Reaktif I : 32,8 gr CH₃COONa'nın 1000 ml distile su içinde eritilmesi ile 0,4 mol/L asetat tampon solüsyonu (pH: 5,8 olacak şekilde) oluşturuldu. 22,8 ml asetik asit, 1000 ml su ile seyreltilerek, 0,4 mol/L konsantrasyona getirildi. 940 ml sodyum asetat solüsyonu ile 60 ml asetik asit solüsyonu karıştırıldı.

Reaktif 2: 2,46 gr CH₃COONa, 1000 ml distile suda eritilerek 30 mmol/L asetat tampon solüsyonu (pH: 3,6) hazırlandı. 1,705 ml Asetik asit 1000 ml distile su ile seyreltilerek, 30 mmol/L konsantrasyonda karışım elde edildi. 75 ml sodyum asetat solüsyonu, 925 ml asetik asit solüsyonu ile karıştırıldı. pH:3,6 olacak şekilde ayarlandı. Sonra 278 µl H₂O₂ solüsyonu, 1000 ml tampon solüsyonu ile seyreltilerek 2 mmol/L konsantrasyona getirildi. Daha sonra 0,549 gr ABTS radikali, 100 ml hazırlanan solüsyonda eritilerek 10 mmol/L konsantrasyona getirildi. Bir saat oda ısısında bekletildi ve karakteristik ABTS renginin oluşması sağlandı.

Spektrofotometrik ayarlardan sonra Aeroset otomatik analizatöre (Abott Aeroset® C8000™ cihazına) uygulandı. Ölçüm formatı aşağıda verilmiştir.

1. reaktif volümü 200 µl (asetat tamponu 0,4 mmol/L, pH 5,8) Örnek volümü 5 µl (serum ya da diğer sıvılar, saf antioksidan solüsyonu)
2. reaktif volümü 20 µl (2. radikal: 30 mmol/L, pH 3,6 içinde ABTS) Dalga boyu 660 nm (ya da 420 ve740 nm aralığı) .

2.7.Total Oksidan Seviye (TOS)

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir.

Reaktif 1: 140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisine 25 mM H₂SO₄ çözülerek ana solüsyon hazırlanır. Ana solüsyonda önce % 10 oranında gliserol çözülüp daha sonra total volümde 250 µM Xlenol orange çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2: Ana solüsyon içeriside önce 10 mM o-Dianisidine dihydrochloride çözülüp sonra 5 mM amonyom ferröz sülfat çözülerek reaktif hazırlanır.

Prensip: Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyona oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xlenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir.

Birim µmol H₂O₂ Eqv. / L

2.8.Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Total Oksidan Seviye (TOS) / Total Antioksidan Seviye (TAS) şeklinde bölünerek Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplandı.

2.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmede SPSS paket programı kullanıldı. Gruplar arası niceliksel verilerin değerlendirilmesinde Kruskal Wallis ve post hoc bonferroni testi kullanıldı..

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

3.BULGULAR

Bu çalışma 10'ar rattan oluşan 5 gruptaki toplam 50 ratta gerçekleştirildi. Deneklerin tümü, protokolü tamamladı. Ratlardan alınan kan örneklerinde TAS, TOS ve OSİ parametreleri ölçülüp gruplar arası istatistiksel olarak kıyaslandı (Tablo 2).

EM ile gerçekleştirilen 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.

	Sham G.	Kontrol G.	Dex.G.	CUR. G.	Dex-CUR G.	P
TAS	0.33±0.06 ^{+ †}	0.08±0.02 ^{*†□}	0.14±0.05 ^{*+□}	0.26±0.06 ^{+ †}	0.33±0.10 ^{+ †}	<0.01
TOS	20.10±4.48	31.55±8.13*	29.78±11.50*	25.59±7.39	30.13±6.83*	<0.01
OSİ	6.36±2.14 ^{††}	40.89±18.03 ^{*††}	24.55±15.08 ^{+*†□}	10.83±5.60 ^{††}	9.86±4.13 ^{††}	<0.01
Histolojik hasar skorlaması	2.5±0.70 ⁺	4.5±0.70	3.0±0.94 ⁺	3.2±1.2 ⁺	3.3±0.70 ⁺	<0.03

***sham grubuna göre anlamlı değer p<0.01**

+kontrol grubuna göre anlamlı değer p<.001

† Dex grubuna göre anlamlı değer p<0.01

□ cur ve cur-dex grubuna göre anlamlı değer p<0.01

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

TAS Değerleri üzerine etkileri

Alınan kan örneklerinde ortalama TAS değerleri hesaplandığında en düşük değerinin kontrol grubunda (0.08±0.02 mmolTroloks Eqv./L) olduğu en yüksek değer ise CUR-DEX grubunda (0.33±0.10 mmolTroloks Eqv./L) olduğu saptandı (Tablo 2) .

TAS gruplar arasında kıyaslandığında;

1-Sham, CUR, DEX, CUR-DEX Grupları Kontrol grubuna göre TAS seviyesi anlamlı olarak yüksek tespit edildi ($p<0.03$).

2-Sham, CUR, CUR-DEX Grupları DEX grubuna göre TAS seviyesi anlamlı olarak yüksek tespit edildi ($p<0.03$).

TOS Değerleri üzerine etkileri

Alınan kan örneklerinde ortalama TOS değerleri hesaplandığında en düşük değerinin Sham grubunda ($20.10\pm 4.48 \mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{Eqv./L}$) olduğu en yüksek değer ise Kontrol grubunda ($31.55\pm 8.13 \mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{Eqv./L}$) olduğu saptandı (Tablo 2).

TOS gruplar arasında kıyaslandığında; Kontrol, DEX ve CUR-DEX grupları Sham grubuna göre TOS seviyesi anlamlı olarak yüksek tespit edildi ($p<0.03$).

OSİ Değerleri üzerine etkileri

Alınan kan örneklerinde ortalama OSİ değerleri hesaplandığında en düşük değerinin Sham grubunda ($6.36\pm 2.14 \text{ AU}$) olduğu en yüksek değer ise Kontrol grubunda ($40.89\pm 18.03 \text{ AU}$) olduğu saptandı (Tablo 2).

OSİ gruplar arasında kıyaslandığında;

1-Sham, CUR, DEX, CUR-DEX Grupları Kontrol grubuna göre OSİ seviyesi anlamlı olarak düşük tespit edildi ($p<0.03$).

2-Kontrol ve DEX grupları Sham grubuna göre OSİ seviyesi anlamlı olarak yüksek tespit edildi. ($p<0.03$).

3-Kontrol ve DEX grupları CUR ve CUR-DEX Grubuna göre OSİ seviyesi anlamlı olarak yüksek tespit edildi. ($P<0.03$)

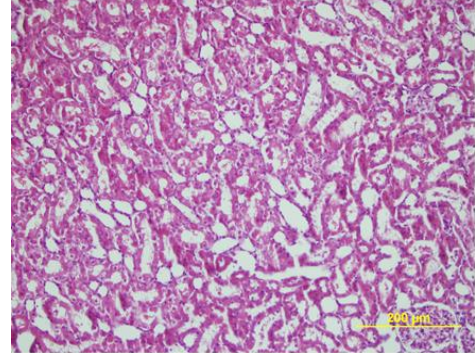
Histopatolojik hasar skoru üzerine etkileri

Her bir ratın böbreği histolojik değerlendirme için alındıktan sonra histopatolojik hasar skorlaması(HHS) en düşük değerinin Sham grubunda (2.5 ± 0.70) olduğu en yüksek değer ise Kontrol grubunda (4.5 ± 0.70) olduğu saptandı (Tablo 2).

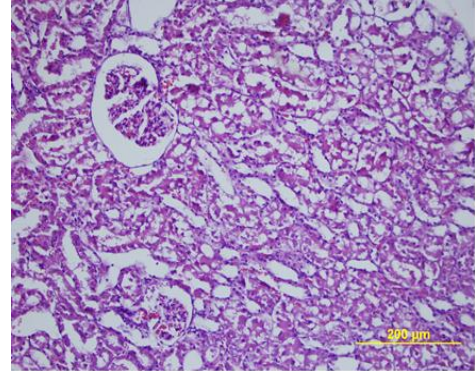
HHS gruplar arasında kıyaslandığında;

Sham, CUR, DEX, CUR-DEX Grupları Kontrol grubuna göre histopatoloji hasar skoru anlamlı olarak düşük tespit edildi ($p < 0.01$) (Resim 2-6).

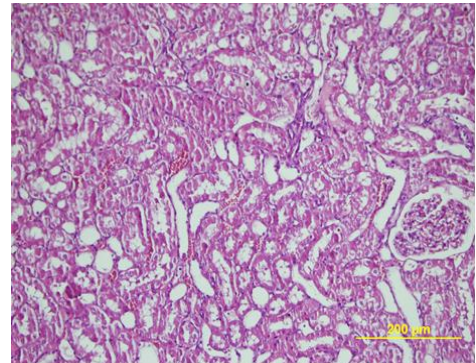
Resim 2 Sham Grubu Böbrek histopatolojik değerlendirilmesi: HEx20 fokal alanlarda hafif derecede interstisyel ödem, fırçamsı kenar kaybı ve tübüler cast formasyonu varlığı izlendi.

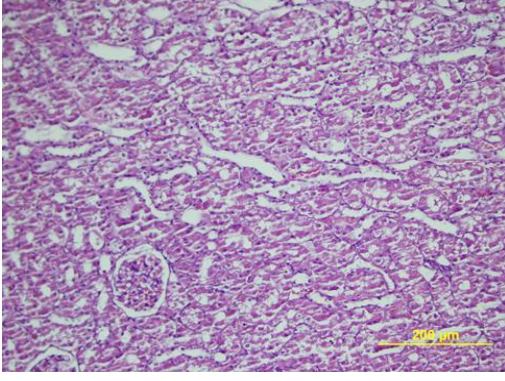


Resim 3 Kontrol grubu böbrek histopatolojik değerlendirilmesi : HEx20 fokal alanlarda tübüler nekrozun eşlik ettiği belirgin tübüler cast formasyonu hafif interstisyel ödem ve fırçamsı kenar kaybı izlendi.

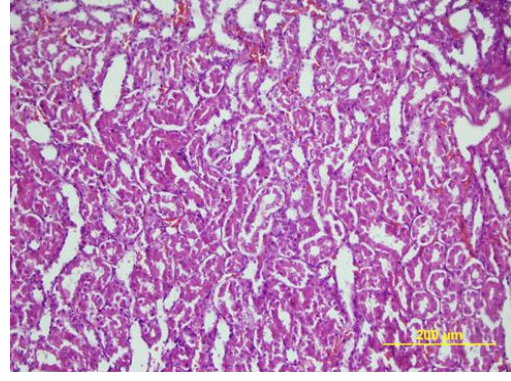


Resim 4. Dex grubu böbrek histopatolojik değerlendirilmesi: HEx20 tübüler dilatasyon, interstisyel ödem, tübül epitel nekrozu tübül epitelinin lümenine dökülmesi izlenmekte





Resim 5 Curcumin grubu böbrek örneği HEx20



Resim 6 Cur/dex grubu böbrek örneği HEx20

Her iki örnekte birkaç fokal alanda seçilebilen tübüler nekroza fokal alanlarda hafif interstisyel ödemin, fırçamsı kenar kaybının ve fokal hafif tübüler cast formasyonunun eşlik ettiği izlendi.

4.TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, ratlarda alt ekstremitelerde oluşturulan iskemi ve reperfüzyon sonrası böbreklerde oluşan iskemi-reperfüzyon hasarına deksmedetomidin ve curcuminin etkilerini araştırmaktır.

Alt ekstremitelerde akut iskemi reperfüzyon hasarı özellikle cerrahi operasyonlarında turnike kullanımı sonrası ortaya çıkmaktadır. İskemi reperfüzyon dönemi sonrasında oluşan uzak organ hasarında böbrekler hedef organ konumundadır ve bu durum klinik olarak önem arz etmektedir.

Cerrahi operasyonlarda kan akımını azaltarak cerrahi alanda daha kolay çalışmayı sağlayan turnike uygulaması sonucu mevcut dokuda hasar ve çeşitli biyokimyasal değişiklikler meydana gelmektedir. Turnike uygulanmasına bağlı olan nöromusküler hasar basınç ve doku deformasyonu ile ilgili olduğu kadar iskemi ve reperfüzyon hasarıyla da yakından ilişkilidir. Turnike kullanımı, bir İ/R modelidir. Turnikeye bağlı İ/R hasarında vasküler yatakta ve kas dokusunda fonksiyonel ve metabolik değişiklikler ortaya çıkar (68).

DeneySEL alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarına böbreğin verdiği yanıt sıçanlarda çok iyi belirlenmiş ve çalışmaların çoğunda sıçanlar tercih edilmiştir (69). Bu bilgilerden yola çıkarak bu çalışmada Wistar albino cinsi sıçanlar kullanılmıştır.

Böbrek kan akımının önemli oranda azalması mitokondriyal oksidatif fosforilasyonu sekteye uğratarak hücre içi yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin tüketilmesi sonucunda membran geçirgenliğinin bozulmasına ve hücre içi Ca^{+2} artışı ile renal hücre hasarına yol açabilmektedir. Hasarın derecesi iskeminin şiddetine ve süresine bağlı olarak değişebilmektedir. Sonuçta oluşan hasar, hücresel şişmenin erken dönemlerinde tamamen geri dönüşümlü iken, ilerleyen dönemlerde hücre ve organellerinin iskeletini bozarak hücre sel ölümle sonuçlanır. Bununla birlikte paradoks gibi gözük en bir durum reperfüzyon hasar olarak tanımlanan hasardır. Kanlanmanın yani oksijenlenmenin yeniden sağlanması her zaman kurtarıcı olmamakla birlikte hücre sel hasarın daha büyümesinin nedeni de olabilir. Bu durum literatürde I/R hasar olarak tanımlanmaktadır (70). Böyle bir durumda reperfüzyon hasarının önlenmesi veya azaltılmasında çare aramak zorunluluğu vardır. En uygun ve en etkin tedavi halen tartışma konusudur. Reperfüzyon komponentini azaltmak için çeşitli terapotik ve farmakolojik stratejiler üzerinde çalışmalar sürmektedir. İskemi ile aktive olmuş nötrofiller reperfüzyonla dolaşıma katılırlar ve uzak organ hasarında etkin rol oynarlar. Bu nötrofil aracılı mekanizma iskemi ve renal reperfüzyonda hasarın oluşmasında en önemli yol olarak karşımıza çıkmaktadır. Hipoksiye bağlı böbrek hasarının patogenezinde serbest oksijen radikallerin ve antioksidan enzimlerin rolünün belirlenmesi, antioksidan tedavi denemelerini gündeme getirmiştir. Oksidatif streste serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar arasındaki denge serbest radikaller lehine bozulur. Serbest oksijen radikallerinin etkisini önlemede tiklopidin, mannitol, allopürinol, askorbik asit, süperoksit dismutaz gibi bazı maddeler denenmiş ve deneysel olarak iskemi reperfüzyon hasarını önlemede etkili oldukları gösterilmiştir (71).

Sıçanlarda alt ekstremit e de iskemi reperfüzyon hasarı oluşturmak için çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Bunların hemen hemen hepsi cerrahi yöntemler ile oluşturulmuştur. Avcı ve ark. yaptıkları çalışmada sıçanların sağ femoral arterleri travmatik olmayan mikrovasküler klemp vasıtasıyla iskemiye neden olmuşlardır (72). Hocaoğlu ve ark. ve Hammad ark. ise aynı metodu kullanarak sol femoral arteri klemplemiştirler (73-74). Tran ve ark. ratlar üzerinde yaptıkları iskemi reperfüzyon modelinde alt ekstremit e de kavucuk bandaj kullanmışlardır (75).Yaptığımız çalışmada gerçeğe daha yakın olması nedeniyle Yassin ve ark. uyguladığı yöntemi model olarak sıçanların sol alt bacaklarını elastik bandaj kullanarak iskemiye sağlamaya çalıştık (67).

İskemik hasarlanma ile iskeminin süresi arasında önemli bir bağlantı vardır. Kullanılan turnike sonrası iskeminin 2. saati kas hasarının alevlendiği süre olarak kabul

edilen bildiriler mevcuttur (4). Heppenstall ve ark. yaptıkları hayvan çalışmasında 2 saatlik turnikeye bağlı iskemide laktik asit ve kreatinin artışına bağlı olarak kas hasarlanması olduğunu göstermişlerdir(76) . Bir diğer çalışmada ise turnike kullanımında ilk hasar 1. saatte vazodilatasyon ve eritem olarak kendini göstermektedir (59). Paller ve ark. iskemi reperfüzyon sonrası uzak organ hasarı için 4 saatlik sürenin uygun olacağını belirtmişlerdir (77). Zhang ve ark. ile Zhao ve ark. elastik bandaj ile yaptıkları iskemi reperfüzyon modelinde 4 saatlik iskemi periyodunu kullanmışlardır (78-79). Hayvanlarda 3 saatlik iskemi sonunda reperfüzyonla oluşan hasar, 4 saatlik reperfüzyon yapılmadan oluşturulan iskemi ile meydana gelen hasardan daha fazladır. İskemik dokuda ATP miktarı azalmakta, adenozin, hipoksantin ve inozin gibi yıkım ürünleri oluşmaktadır. Sobhani ve ark. iskemi sonrası renal hasarın en erken 2 saat sonra gözlenebildiği belirtmişlerdir (80). Sun ve ark. ile Avcı ve ark. yaptıkları iskemi reperfüzyon modelinde 4 saatlik iskemi süresi ile 2 saatlik reperfüzyon süresini uygulamışlardır (81,72). Yaptığımız iskemi-reperfüzyon modelinde yapılan çalışmalara uygunluk açısından iskemi süresi olarak 4 saati ve reperfüzyon süresi olarak da 2 saati tercih ettik.

Dexmedetomidinin uzak organ hasarları üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar mevcuttur. Gu ve ark. fareler üzerinde bilateral renal arterleri klemplayerek uyguladıkları iskemi reperfüzyon modeli ile deksmedetomidinin akciğer hasarı üzerine etkilerini incelemişlerdir (82). Curtis ve ark. rat renal iskemi reperfüzyon modelinde deksmedetomidin ve s-ketamin etkilerini kıyasladıkları çalışmalarında sol renal artere klempaj uygulayarak reperfüzyon sonrası renal doku örnekleri almışlardır (83) . Kılıç ve ark. tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmada ise mezenter arter oklüzyonuna bağlı iskemi reperfüzyon sonrası deksmedetomidinin böbrek üzerine etkisini incelemişlerdir (84). Koçoğlu ve ark. fareler üzerinde renal arteri klemplayerek yaptıkları çalışmada deksmedetomidinin renal dokudaki etkilerini incelemişlerdir (73). Literatürde alt ekstremitte iskemi reperfüzyona bağlı olarak gelişen uzak organ hasarında deksmedetomidinin etkisini araştıran çalışma bulunmamaktadır. Yağmurdur ve ark. deksmedetomidinin üst ekstremitte turnike kullanımına bağlı olarak meydana gelen iskemi reperfüzyon markerlerine olan etkisini araştırmışlardır (85) .

Deksmedetomidinin iskemi reperfüzyon hasarında böbrek üzerine histopatolojik incelemeler mevcuttur. Koçoğlu ve ark. iskemi reperfüzyon modelinde böbrek üzerine nekrotik ve apoptotik hücreler, tübüler fırça sınır kaybı, tübüler dilatasyon, biçim kaybı, nötrofil infiltrasyon bölümleri ile oluşturulan histopatolojik incelemelerinde deksmedetomidinin daha az hasar bıraktığını göstermişlerdir (72). Gu ve ark. böbrek iskemi

reperfüzyonun akciğer üzerine histopatolojik incelemelerinde de deksmedetomidinin hasar üzerinde daha az rol aldığını belirtmişlerdir (82). Gu ve ark. böbrek üzerinde tekrarlanan iskemi reperfüzyon sonrası deksmedetomidinin böbrek üzerinde koruyucu etkisini göstermişlerdir (86). Yaptığımız çalışmada histolojik parametre olarak tübüler nekroz, interstisyel ödem, fırçamsı kenar kaybı ve tübül epitelinin bazal membrandan ayrılıp lümene dökülmesi (cast formasyonu) değerlendirildi. Deksmetomidin grubu kontrol grubuna göre histopatoloji hasar skoru anlamlı olarak düşük tespit edildi.

İskemi reperfüzyon modellerinde serumda çeşitli etkenlere karşı deksmedetomidinin etkilerini araştıran yayınlar mevcuttur. Uysal ve ark. ratlar üzerinde deksmedetomidinin nitrik oksit, malondialdehit (MDA) ve myeloperoksidaz (MPO) aktivitesine etkilerini incelemişlerdir (87). Kılıç ve ark. tavşanlar üzerinde mezenterik arter oklüzyonuna bağlı iskemi reperfüzyon sonrası böbrek hasarı ile birlikte deksmedetomidin malondialdehit, total antioksidan, total oksidan, lipid hidroperoksidaz seviyesi, süperoksit dizmutaz, katalaz ve myeloperoksidaz aktivite seviyesi üzerine etkisini incelemişlerdir (84). Hanci ve ark. fareler üzerinde testiküler iskemi reperfüzyon sonrası deksmedetomidinin total antioksidan seviyesi ile birlikte malondialdehit seviyesine etkisini araştırmışlardır (88). Ratlar üzerinde yaptığımız çalışmada total oksidan seviyesi, total antioksidan seviyesi ile oksidatif stress indeksini ölçerek deksmedetomidinin etkisini araştırdık. Deksmetomidin grubu kontrol grubuna göre TAS seviyesi anlamlı olarak yüksek tespit edildi ($p<0.03$). Deksmetomidin grubu Sham grubuna göre TOS seviyesi anlamlı olarak yüksek tespit edildi ($p<0.03$). Deksmetomidin grubu kontrol grubuna göre OSİ seviyesi anlamlı olarak düşük tespit edildi ($p<0.03$). Sonuçlarımız literatür bilgileri ile örtüşmektedir.

Deksmetomidinin klinik kullanımı dışında renal İR hasarını önleyici etkisi yeterince araştırılmamıştır. Renal hasar korunmasında deksmedetomidin rolü çok açık değildir. Deksmetomidin renal arter vazodilatasyonunu desteklemektedir. Aynı zamanda böbrekte direk vasküler etki gösterebilir ve glomerüler filtrasyonu artırdığı kabul edilmektedir (72). Ayrıca presinaptik alfa adrenerjik reseptör aracılığı ile iskeminin neden olduğu aşırı noradrenalin salgısının inhibisyonu ile ilişkili olabilir. Bu presinaptik alfa adrenerjik reseptör üzerinde noradrenalin etkileri önleyerek serbest radikal oksijen üretim potansiyel zararlı etkilerinin önüne geçebilir. Gu ve ark. deksmedetomidinin renal hücre ölümünü azaltmak, HMGB-1 (High Mobility Group Protein B1) salınımını azaltmak ve TLR-4 (Toll-Like Receptor 4) oluşumunu azaltarak enflamatuvar kaskadı baskılamak suretiyle renal İR hasarını azalttığını bildirmişlerdir (82).

İskemi reperfüzyon modellerinde curcumin kullanımı ile ilgili çalışmaların sayısı az sayıdadır. Nurullahoglu-Atalik ve ark. ile Önder ve ark. ratlarda mesenterik, Lin ve ark. ise karaciğerde iskemi reperfüzyon modelinde curcumin etkilerini, Güzel ve ark. ise intestinal iskemi reperfüzyon modelinde uzak hasar olarak akut akciğer hasarında curcuminin etkisini araştırmışlardır (89-92). Alt ekstremitte ile ilgili ratlarda yapılan iskemi reperfüzyon modelinde curcuminin etkisini araştıran tek bir çalışma mevcut olup Avcı ve ark. tarafından yapılmıştır (72). Çalışmada ratların femoral arter ve veni klemplenip 4 saatlik iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon sonrası 100mg/kg curcumin, α -tokopherol ve normal salini superoksit dizmutaz (SOD), katalaz (CAT) aktivitesi ile glutatyon, malondialdehit ve protein oksidasyonu seviyeleri üzerine etkilerini karşılaştırmışlar. Diğer iskemi reperfüzyon çalışmalarında yukarıdaki enzimler dışında doku nitrik oksit, protein karbonil değerleri de incelenmiştir. Curcuminin iskelet kası üzerinde antioksidan özelliğinin daha güçlü olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada ise ratlarda alt ekstremitte iskemi reperfüzyon modelini elastik bandaj kullanarak gerçekleştirdik. Curcumin 200 mg/kg olarak kullanıldı. TAS, TOS ve OSİ değerlerini inceledik. Curcumin grubu deksmedetomidin ve kontrol grubuna göre TAS seviyesi anlamlı olarak yüksek tespit edildi ($p<0.03$). Curcumin grubu Kontrol grubuna göre OSİ seviyesi anlamlı olarak düşük tespit edildi ($p<0.03$).

Curcuminin iskemi reperfüzyon modeli çalışmalarında etkilenen organların histopatolojik incelemeleri genelde yapılmıştır. Nurullahoglu-Atalik ve ark. ratların özafagus örneklerinde ödem, konjesyon ve inflamatuvar hücrelerinden oluşan parametreleri incelemişler (89). Önder ve ark. incebağırsaklar üzerinde aynı histopatolojik sonuçlar elde etmişlerdir. Bayrak ve ark. da bu sonuçlara paralel verilere ulaşmışlardır (93). Yaptığımız çalışmada histolojik parametre olarak tübüler nekroz, interstisyel ödem, fırçamsı kenar kaybı ve tübül epitelinin bazal membrandan ayrılıp lümene dökülmesi (cast formasyonu) değerlendirildi. Curcumin grubu kontrol grubuna göre histopatoloji hasar skoru anlamlı olarak düşük tespit edildi ($p<0.01$).

Curcumin etkilerini araştıran çalışmalarda farklı dozlar kullanılmıştır. Güzel ve ark. intestinal iskemi reperfüzyon sonrası akut akciğer hasarını incelemişler curcumin dozu olarak da 100mg/kg kullanmışlardır (92). Önder ve ark. aynı tür çalışmada doz olarak 200 mg/kg curcumin kullanılmıştır (90). Sun ve arkadaşlarının akciğer iskemi reperfüzyon modelinde curcumin 50mg/kg ile 200 mg/kg olacak şekilde iki farklı dozunu kullanmışlardır. 200 mg/kg curcumin dozunun histopatolojik değerlendirmede akciğer üzerinde daha koruyucu rol aldığını tespit etmişler. Genel olarak curcuminin oksidative stresi iyileştirdiği ve inflamatuvar

sitokinlerin ekspresyonunu inhibe ettiğini doz olarak da 200mg/kg ın daha etkin olduğunu göstermişlerdir (81). Önceden yapılan iskemi reperfüzyon modellerinde kullanılan curcumin dozlarını karşıladırdıktan sonra çalışmamızda curcuminin dozunu 200mg/kg olacak şekilde kullandık.

Deksmedetomidin ile ilgili yapılan iskemi reperfüzyon çalışmalarında çeşitli dozlar uygulanmışlardır. Engelhard ve ark. serebral iskemi reperfüzyon modelinde deksmedetomidin ile ketaminin etkinliklerini karşılaştırmışlar deksmedetomidin dozu olarak 100 mcg/kg kullanmışlardır (94). Kılıç ve ark. tavşanlar üzerinde mezenterik iskemi reperfüzyon modeli oluşturmuşlar böbrek ve mide üzerinde deksmedetomidin etkilerini incelemişlerdir. Doz olarak 10 µg/kg tercih etmişlerdir (84). Bell ve ark. deksmedetomidinin rat spinal kord üzerinde iskemi reperfüzyon çalışması gerçekleştirmişler, doz olarakda 25 µg/kg kullanmışlar. Sanders ve ark. ile Ma ve ark. deksmedetomidinin nöroprotektif etkilerini araştırmak için yaptıkları çalışmalarda uygun doz olarak 25 µg/kg kullanmışlardır (95). Gu ve arkadaşları iskemi reperfüzyon modelinde akut böbrek hasarı üzerinde deksmedetomidin ve atipamezolün etkilerini incelemişler deksmedetomidin dozu olarak 25 µg/kg kullanmışlardır (86). Önceden yapılan iskemi reperfüzyon modellerinde kullanılan deksmedetomidin dozlarını karşıladırdıktan sonra çalışmamızda deksmedetomidin dozunu 25 µg/kg olacak şekilde kullandık.

Curcuminin iskemi-reperfüzyon modeli oluşturularak yapılan çalışmalarda çeşitli biyokimyasal parametreler incelenmiştir. Önder ve ark. mezenterik arter oklüzyonu sonucu oluşturdukları iskemi sonrası malonaldehit, total antioksidan kapasite, total oksidan statü ile oksidatif stress indeksine ölçmüşler (90). İskemi reperfüzyon dışında curcuminin antioksidan özelliği için biyokimyasal parametreler olarak TAS, TOS, OSİ ve Malonaldehit bakan az sayıda çalışma mevcuttur (96).

Deksmedetomidinin etkilerini araştıran az sayıda iskemi reperfüzyon modellerinde antioksidan özelliğini ölçmek için çeşitli parametreler kullanılmıştır. Kılıç ve ark. tavşanlar üzerindeki çalışmalarında mezenterik arter oklüzyonu sonucu iskemi oluşturmuşlar oksidasyon ve antioksidasyon özellikler için malonaldehit, total antioksidan seviye, total antioksidan seviye, lipid hidroperoksit, süperoksit dizmutaze, katalaz ve miyeloperoksidaz aktivite seviyesine bakmışlardır (84). Eser ve ark. deksmedetomidinin iskemi reperfüzyon modeli üstünde nöroprotektif etkilerini araştırmışlar antioksidatif etkileri için serumda malonaldehit, süperoksit dizmutaz seviyelerini ölçmüşlerdir (97). Deksmedetomidinin

antioksidan özellikleri iskemi reperfüzyon dışında başka çalışmalarda gösterilmiş, antioksidan parametreler olarak da malonaldehit, süperoksit dizmutaz kullanılmıştır (98). Curcumin ve deksmedetomidin ile ilgili iskemi reperfüzyon modelleri incelediğimizde antioksidan ve oksidan seviye ölçümleri için TAS, TOS ve OSİ parametrelerinin kullanmayı uygun bulduk.

İskemi reperfüzyon çalışma modellerinde böbrek hasarının incelenmesi için çeşitli histopatolojik skor sistemleri uygulanmıştır. Gu ve ark. modifiye hasar skoru geliştirmiş parametre olarak, tübül yapısı değişiklikleri, nükleer boya kaybı ve epitel hücre kaybını incelemiştir (86) . Kılıç ve ark. uzak organ hasarı açısından böbrekler üzerine tübüler epitel hücre kaybı ile glomerüller kaybını incelemiştir (84) . Bayrak ve ark. ise tübüler hücre nekrozunu incelemişler, tübüler hücre kaybı oranına bağlı olarak skorlama geliştirmişlerdir (93). Koçoğlu ve ark. ise histopatolojik skorlarda parametre olarak tübüler dilatasyon, cast formasyon ve nötrofil infiltrasyonu kullanmışlardır (73).

Çalışmamızda histopatolojik hasar skorlaması olarak Solez ve ark. tarafından kullanılan skorlama sistemiyle böbrek hasarının şiddeti skorlandı. Yok:0 var:1 belirgin:2 olarak kabul edildi. Her örnek için tüm parametre skorları toplanarak histolojik skor belirlendi (99).

Yapılan literatür çalışmasında; alt ekstremitte iskemi reperfüzyon modelinde deksmedetomidin etkilerinin çalışılmadığı, curcumin de ise alt ekstremitte iskemi-reperfüzyon modellerinde az sayıda çalışıldığı, bunların ise cerrahi olarak femoral arter ve ven oklüzyonu ile sağlandığı görülmüştür. deksmedetomidin ve curcuminin birlikte kullanıldığı iskemi-reperfüzyon çalışması bulunmamaktadır (72). Yaptığımız çalışmada curcuminin ve deksmedetomidinin ratlar üzerinde alt ekstremitte iskemi reperfüzyon modelinde etkilerini ayrı ayrı ve birlikte kullanarak inceledik. Uzak organ hasarı olarak da diğer iskemi reperfüzyon modellerin çoğunda olduğu gibi böbreği tercih ettik.

Sonuç olarak curcumin ve deksmedetomidin iskemi reperfüzyona bağlı gelişen böbrek hasarını önemli ölçüde azaltmaktadır. Ancak bizim çalışmamızın sonuçlarına göre curcuminin deksmedetomidine göre daha iyi bir koruma sağladığını söylemek mümkündür.

4.SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak çalışmamızda; histopatolojik olarak curcumin ve deksmedetomidinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde iskemi reperfüzyona bağlı tubuler nekrozu azalttığı kanıtlanmış oldu. Preparatların incelenmesinde iskemi reperfüzyon kontrol grubunda yaygın tübüler hasarda görülen bulgular olan tübüler dilatasyon, interstisyel ödem, tübül epitel nekrozu tübül epitelinin lümenine dökülmesi izlenirken Curcumin ve Cur/Dex gruplarında gözlenen hasar daha azdı.

Doğal olarak özellikle alt ekstremitelerde iskemi reperfüzyon hasarının oluşumunun azalması, lokal ve uzak etkilerinin minimale indirilmesi için en önemli olan erken tanı ve mümkün olduğunca erken revaskülarizasyon sağlanmasıdır.

Çalışmamızda alt ekstremitelerde oluşturulan iskemi ve sonrasında uygulanan reperfüzyonun böbrekte hasarlanma yaptığını glomerül ve tubulus epitelinde ışık mikroskopisi verileri ile tespit ettik. Deneysel çalışmamızın sonuçları curcumin ve cur/dex gruplarında iskemi reperfüzyon sonrası böbrekte oluşan hasarı azalttığını göstermektedir. Bu düşüncüyü destekleyen bulgular glomerülde ve tubulus epitelinde gözlenen iskemi reperfüzyon grubuna göre anlamlı derecede düşük tespit edilen hasarlanmadır. Akut alt ekstremitelerde iskemi reperfüzyon sonrası gelişen lokal ve sistemik etkilerin tedavisinde curcumin ve deksmedetomidinin yararlı olabileceği kanaatindeyiz. Özellikle planlı ekstremitelerde turnike işlemlerinde iskemi reperfüzyonun lokal ve uzak etkilerinin azaltılmasında curcumin ve deksmedetomidinin kullanılması faydalı olacaktır.

5.KAYNAKLAR

- 1) Kandilci HB, Gümüsel B. Akciğerlerde İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve İskemik Önkoşullama. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi. 2005; 25: 35
- 2) Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischemia and reperfusion injury. Br Med Bull. 2004; Oct 19;70:71-86 Print 2004. Rewiew. Erratum in: BrMed Bull. 2005; 73-74:139.
- 3) Köksal C, Bozkurt A, Gökçe Şirin. Aprotinin ameliorates ischemia/reperfusion injury in rat hind limb model. Vascul Pharmacol 2004; 41:125–9.
- 4) Jean-Pierre Estebe, Joanna M. Davies and Philippe Richebe. The pneumatic tourniquet: mechanical, ischaemia–reperfusion and systemic effects. Eur J Anaesthesiol 2011;28: 404–411.
- 5) Erdine S. Rejyonel Anestezi. istanbul: Nobel tıp kitabevleri 2005, 1-44;104-108.
- 6) Klenerman L. The tourniquet in surgery. J Bone Joint Surg 1962; 44-B: 937-943.
- 7) Younger AS, McEwen JA, Inkpen K. Wide contoured thigh cuffs and automated limb occlusion measurement allow lower tourniquet pressures. Clin Orthop Relat Res 2004; 428:286–293.
- 8) 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; 286:257–261.
- 9) Klenerman L, Hulands GH. Tourniquet pressure for the lower limb. J Bone Joint Surg. 1979; 61-B: 124-128.
- 10) Pedowitz RA, Gershuni DH, Schmid AH, Friden J, Rydevik BL, 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: 610-621.
- 11) 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; 433:189–194.
- 12) Duffy PJ. The Arterial Tourniquet. The global textbook of anesthesiology Ontario: The Ottawa Hospital; 2000, 1-19.
- 13) 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.
- 14) McGrath BJ, Hsia J, Boyd A, et al. Venous embolization after deflation of lower extremity tourniquets. Anesth Analg 1994; 78:349–353.
- 15) Wilgis EFS. Observations on the effect of tourniquet ischemia. J Bone Joint Surgery 1971; 53(a): 1343-6.
- 16) 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: 314-317.
- 17) Honda HM, Korge P, Weiss JN. Mitochondria and ischemia/reperfusion injury. Ann NY Acad Sci 2005; 1047:248–258.
- 18) Cynthia LH, Brian WC, et al. A North American survey of intravenous regional anesthesia. Anesth & Analg 1997; 85: 858-63.
- 19) 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.
- 20) Ostman B, Michaelsson K, Rahme H, et al. Tourniquet-induced ischemia and reperfusion in human skeletal muscle. Clin Orthop Relat Res 2004; 418:260–265.
- 21) Sparling RJ, Murray AW, Choksey M. Raised intracranial pressure associated with hypercarbia after tourniquet release. Br J Neurosurg 1993; 7:75–77.

- 22) Siemionow M, Arslan E. İschemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery*. 2004; 24(6): 468-75.
- 23) Semenza GL. Perspective on oxygen sensing. *Cell*. 1999;Aug 6; 98(3):281-4
- 24) Robbins and Kumar, Basic Pathology Kısım 1.1 Hücre Zedelenmesi ve Adaptasyon. 1990, 4. Baskı, Güneş Kitabevi.
- 25) Newmeyer DD, Ferguson-Miller S. Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death. *Cell*. 2003;21;112(4):481-90.
- 26) Zhao ZQ, Vinten-Johansen. Postconditioning: Reduction of reperfusion-induced injury. *J Cardiovasc Res*2006;70: 20011
- 27) Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. *Free Rad Res*. 1998; 28:672-78.
- 28) Dormandy TI. An approach to free radicals. *Lancet* 1983;2:1010-1014
- 29) Cotran R: Hücre Zedelenmesi Adaptasyon. Basic Pathology. Cotran R, Kumar V, Robbins S. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri. 1994;1: 3 -11
- 30) Erden M. Serbest Radikaller. *T Klin Tıp Bilimleri Journal of Medical Sciences*. 1992; 12: 201-7.
- 31) Hayes G, Liauw S, Romaschin AD, Walker PM. Separation of reperfusion injury from ischemia-induced necrosis. *Surg Forum*, 1988;39:306-308
- 32) Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol*, 2000;190:255-266
- 33) 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
- 34) Jensen SJK. Oxidative stress and free radicals. *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, 2003; 666-667: 387-392
- 35) Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp dergisi*, 2002; 33:110-118.
- 36) Davies SJ, Reichardt-Pascal SY, Vaughan D, Russell GI. Differential effect of ischaemia-reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney. *Exp Nephrol* 1995;3(6):348-54
- 37) Scandalios JG: The rise of ROS. *TRENDS in Biochemical Sciences*, 2002; 27: 483-486.
- 38) Wijnberger LD, Krediet TG, Visser GH et al: Early neonatal antioxidant capacity after preexisting impaired placental function. *Early Hum Dev*, 2003; 71:111-6
- 39) Moore KL. The abdomen Clinically Oriented Anatomy. Üçüncü baskı. Sattelfield TS (ed) Williams&Wilkins Baltimore 1992;Sayfa 127-242
- 40) Guyton AC, Hall JE. Urine formation by the kidneys: Glomerular filtration, renal blood flow and their control. *Textbook of Medical Physiology*.9th ed. Pennsylvania: WB Saunders Company; 1996. p.315-330.
- 41) Aantaa, R. and M. Scheinin, Alpha 2-adrenergic agents in anaesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand*, 1993. 37(5): p. 433-48.
- 42) Clarke KW, Hall LW. "Xylazine"- a new sedative for horses and cattle. *Vet Rec* 1969; 85: 512-7.
- 43) Doze VA, Chen BX, Maze M. Dexmedetomidine produces a hypnotic-anesthetic action in rats via activation of central alpha2 adrenoceptors. *Anesthesiology* 1989; 71: 75-9.
- 44) Maze, M., Clinical uses of alpha2 agonists. *The American Society of Anesthesiologists*., 1992. 20: p. 133-142.
- 45) Gertler R, Brown HC, Mitchell DH et al. Dexmedetomidine: a novel sedative agent. *BUMC Proceedings* 2001;14: 13-21

- 46) Mantz, J., Dexmedetomidine. *Drugs Today (Barc)*, 1999. 35(3): p. 151-7.
- 47) Talke P. Pharmacodynamics of alpha₂-adrenoceptor agonists. *Clinical Anesthesiology* 2000; 14: 271-83.
- 48) 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.
- 49) 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.)
- 50) Aho M, Erkola O, Kallio A, et al. Dexmedetomidine infusion for maintenance of anaesthesia in patients undergoing abdominal hysterectomy. *Anesth Analg* 1992; Dec: 75: 940-6
- 51) Ralph Getrlar, H.C.B.a.a., Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *Baylor University Medical Center Proceedings*, 2001. 14: p. 13-27
- 52) Pandya U, Saini MK, Jin GF, Awasthi S, Godley BF, Awasthi YC. Dietary curcumin prevents ocular toxicity of naphthalene in rats. *Toxicol Lett*, 1,195-204, 2000.
- 53) Aggarwal B.B., Kumar A. and Bharti A.C. 2003. Anticancer potential of curcumin: Preclinical and clinical studies. *Anticancer Res.*, 23, 363.
- 54) Vogel, H.A.; Pelletier, J. Curcumin-biological and medicinal properties. *J. Pharma.* 1815, 2, 50.
- 55) Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, Srimal RC. Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life Sci* 2006; 78: 2081- 7. 40
- 56) Jayaprakasha GK, Rao LJM, Sakariah K. Chemistry and biological activities of *Curcuma longa*. *Trends Food Sci Tech* 2005; 16: 533- 48
- 57) Sreejayan, Rao,M.N.Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 1997; 49(1),105-7
- 58) Hong, J., Bose, M., Ju, J., Ryu, J.H., Chen, X., Sang, S., Lee, M.J., Yang, C.S., 2004. Modulation of arachidonic acid metabolism by curcumin and related beta-diketone derivatives: effects on cytosolic phospholipase A(2), cyclooxygenases and 5-lipoxygenase. *Carcinogenesis* 25 (9), 1671–1679
- 59) Zhang F, Altorki NK, Mestre JR, et al. Curcumin inhibits cyclooxygenase-2 transcription in bile acid- and phorbol ester-treated human gastrointestinal epithelial cells. *Carcinogenesis* 1999, 20, 445–451.
- 60) Brouet I, Ohshima H. Curcumin, an anti-tumour promoter and anti-inflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1995, 206, 533–540
- 61) Phan, T.T., See, P., Lee, S.T., Chan, S.Y., 2001. Protective effects of curcumin against oxidative damage on skin cells in vitro: its implication for wound healing. *Journal of Trauma* 51 (5), 927–931
- 62) Ganesh Chandra Jagetia Curcumin Treatment Enhances the Repair and Regeneration of Wounds in Mice Exposed to Hemibody _-Irradiation” *Plast. Reconstr. Surg.* 115: 515, 2005
- 63) Toda S. , Miyase T., Arichi H. , Tanizawa H., Takino Y. Natural antioxidants. III.Antioxidative components isolated from rhizome of curcuma longa L.*Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 1985; 33(4), 1725-8
- 64) Folkman, J., Shing, Y., 1992. Angiogenesis. *Journal of Biological Chemistry* 267 (16), 10931–10934.
- 65) Robinson, T.P., Ehlers, T., Hubbard, I.R., Bai, X., Arbiser, J.L., Goldsmith, D.J., Bowen, J.P., 2003. Design, synthesis, and biological evaluation of angiogenesis

- inhibitors: aromatic enone and dienone analogues of curcumin. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 13 (1), 115–117
- 66) MariaMLoTempio Curcumin Suppresses Growth of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma, *Otolaryngology–Head and Neck Surgery* Volume 131 Number 2
 - 67) 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
 - 68) Padowitz RA. Tourniquet-induced neuromuscular injury. A recent review of rabbit and clinical experiments. *Acta Orthop Scand* 1991; 245: 1-33.
 - 69) V.Ozcan et al. The effect of iloprost and vitamin C on kidney as a remote organ after ischemia reperfusion of lower extremities. *Journal of Surgical Research* 2007;140:20-26
 - 70) Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease 7th Ed. Philadelphia, Saunders, 2004
 - 71) Enkaya I, Ökten B, Saba D, Güven H, Dirican M, Serdar Z, Tolunay Ş, Özer Z. İskelet kasi iskemi reperfüzyon hasarının azaltılmasında tiklopidin. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerahisi Dergisi* 1999;7:405-410
 - 72) Avci G, Kadioglu H, Sehirlı AO, Bozkurt S, Gudu O, Arslan E, Muratlı SK. Curcumin Protects Against Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Skeletal Muscle. *J Surg Res* 2012 :172(1);39-46.
 - 73) 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):70–74
 - 74) Hammad FT, Al-Salam S, Lubbad L. Curcumin provides incomplete protection of the kidney in ischemia reperfusion injury. *Physiol Res* 2012 Aug 8
 - 75) Tran et al. Tourniquet-induced acute ischemia–reperfusion injury in mouse skeletal muscles: Involvement of superoxide. *European Journal of Pharmacology* 650 (2011) 328–334
 - 76) Heppenstall, R.B., Balderston, R., Goodwin, C., 1979. Pathophysiologic effects distal to a tourniquet in the dog. *J. Trauma* 19, 234–238.
 - 77) Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in rat. *J Clin Invest* 1984;74:1156-1164
 - 78) Zhang JC, Zheng GF, Wu MX, Wu JW, Ouyang LY, Liu XQ. Effect of magnesium isoglycyrrhizinate on PLA2 during liver tissue injury following limb ischemia/reperfusion in rats. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* 2012 Jul;20(7):537-41.
 - 79) 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 May;28(3):281-3.
 - 80) Sobhani R, Masoudpour H, Akbari M, Suzangar HR, AleSaeidı 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 Jan-Feb;83(1):49-54.
 - 81) Sun J, Guo W, Ben Y, Jiang J, Tan C, Xu Z, Wang X, Bai C. Preventive effects of curcumin and dexamethasone on lung transplantation-associated lung injury in rats. *Crit Care Med.* 2008 Apr;36(4):1205-13
 - 82) J. Gu, J. Chen, P. Xia, G. Tao, H. Zhao, D. Ma. Dexmedetomidine attenuates remote lung injury induced by renal ischemia-reperfusion in mice. *Acta Anaesthesiol Scand* 2011; 55: 1272–1278

- 83) 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 ; Vol 26(3) 202-6
- 84) Kılıç K, Hancı V, Selek S, Sözmen M, Kiliç N, Cital 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 Nov;178(1):223-32
- 85) 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
- 86) Gu et all. Dexmedetomidine provides renoprotection against ischemia-reperfusion injury in mice *Critical Care* 2011, 15:R153.
- 87) Uysal HY, Cuzdan SS, Kayran O, Başar H, Fidanc V, Afyoncu E, Ustün H, Gülbahçe R. Preventive effect of dexmedetomidine in ischemia-reperfusion injury. *J Craniofac Surg.* 2012 Sep;23(5):1287-91.
- 88) Hancı V, Erol B, Bektaş S, Mungan G, Yurtlu S, Tokgöz H, Can M, Ozkoçak Turan I. Effect of dexmedetomidine on testicular torsion/detorsion damage in rats. *Urol Int.* 2010;84(1):105-11
- 89) Nurullahoglu-Atalik KE, Okudan N, Belviranlı M, Gokbel H, Oz M, Esen H. Role of curcumin in mesenteric ischemia - reperfusion injury in rats. *Bratisl Lek Listy.* 2012;113(8):465-70
- 90) Onder A, Kapan M, Gümüş M, Yüksel H, Büyük A, Alp H, Başarılı MK, Fırat U. The protective effects of curcumin on intestine and remote organs against mesenteric ischemia/reperfusion injury. *Turk J Gastroenterol.* 2012 Apr;23(2):141-7.
- 91) Lin CM, Lee JF, Chiang LL, Chen CF, Wang D, Su CL. The protective effect of curcumin on ischemia-reperfusion-induced liver injury. *Transplant Proc.* 2012 May;44(4):974-7.
- 92) Guzel A, Kanter M, Guzel A, Yucel AF, Erboga M. Protective effect of curcumin on acute lung injury induced by intestinal ischemia/reperfusion. *Toxicol Ind Health.* 2012 Jan 17. [Epub ahead of print]
- 93) Bayrak O, Uz E, Bayrak R, Turgut F, Atmaca AF, Sahin S, Yildirim ME, Kaya A, Cimentepe E, Akcay A. Curcumin protects against ischemia/reperfusion injury in rat kidneys. *World J Urol.* 2008 Jun;26(3):285-91
- 94) 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
- 95) Sanders RD, Maze M: Alpha2-adrenoceptor agonists. *Curr Opin Investig Drugs* 2007, 8:25-33., Ma D, Hossain M, Rajakumaraswamy N, Arshad M, Sanders RD, Franks NP, Maze M: Dexmedetomidine produces its neuroprotective effect via the alpha 2A-adrenoceptor subtype. *Eur J Pharmacol* 2004, 502:87-97.
- 96) Acar A, Akil E, Alp H, Evliyaoglu O, Kibrisli E, Inal A, Unan F, Tasdemir N. Oxidative damage is ameliorated by curcumin treatment in brain and sciatic nerve of diabetic rats. *Int J Neurosci.* 2012 Jul;122(7):367-72
- 97) Eser O, Fidan H, Sahin O, Cosar M, Yaman M, Mollaoglu H, Songur A, Buyukbas S. The influence of dexmedetomidine on ischemic rat hippocampus. *Brain Res.* 2008 Jul 7;1218:250-6

- 98) Eser O, Fidan H, Sahin O, Cosar M, Yaman M, Mollaoglu H, Songur A, Buyukbas S. The influence of dexmedetomidine on ischemic rat hippocampus. *Brain Res.* 2008 Jul 7;1218:250-6
- 99) Solez K, Racusen LC. Role of the renal biopsy in acute renal failure. *Contrib Nephrol.* 2001;(132):68-75.