



T.C
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

ALT EKTREMİTE DENEYSEL İSKEMİ/REPERFÜZYON MODELİNDE
GELİŞEN REPERFÜZYONA BAĞLI İSKELET KAS HASARINA
KETOPROFEN'İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Hüseyin DURSİN

UZMANLIK TEZİ

AĞUSTOS 2016



T.C

ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**ALT EKTREMİTE DENEYSEL İSKEMİ/REPERFÜZYON MODELİNDE
GELİŞEN REPERFÜZYONA BAĞLI İSKELET KAS HASARINA
KETOPROFEN'İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Hüseyin DURSİN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI: Doç. Dr. Kemalettin ERDEM

AĞUSTOS 2016

**Bu tez AİBÜ Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından
2016.08.15.1001 proje numarası ile desteklenmiştir.**

TEŐEKKÖRLER

Yaşamımın her anında sevgi ve desteklerini esirgemeyen, uzmanlık eğitimim boyunca zorlukları benimle birlikte paylaşan, bugünü yaşamamda büyük katkıları olan değerli annem Gölai DURSİN, babam Adem DURSİN, kardeşim M.Yasir DURSİN'e ve sevgili eşim Arzu DURSİN'e teőekkürlerimi bir borç bilirim.

Dr Hüseyin DURSİN



İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	vi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1. Hücre	4
2.2. Hücre hasarı	4
2.3. İskemi ve Hipoksi	8
2.4. Reperfüzyon ve Reperfüzyon Hasarı	9
2.5. Reperfüzyon Hasarı Mekanizması	10
2.5.1. Nötrofiller (PMNL)	10
2.5.1.1. Ksantin oksidaz	13
2.5.2. Endotel	13
2.5.2.1. Endotelin	14
2.5.2.2. Nitrik oksit (NO)	14
2.5.2.3. Platelet aktive edici faktör (PAF)	15
2.5.2.4. Histamin ve Bradikinin	15
2.5.2.5. Sitokinler	16
2.5.2.6. AraşidonikAsid (AA) Metabolitleri	16
2.5.2.6.1. COX yolu	17
2.5.2.6.2. Lipoksigenaz Yolu:	17
2.5.3. Kompleman	18
2.5.4. Serbest oksijen radikalleri	19
2.5.4.1. Serbest oksijen radikalleri hasar mekanizları	21
2.5.4.2. İ/R hasarında serbest oksijen radikallerinin rolü	22

2.5.5. Serbest oksijen radikallerine karşı savunma sistemleri	23
2.5.5.1. Antioksidanlar	24
2.5.5.1.1. Enzim yapısında olanlar	24
2.5.5.1.2. Enzim yapısında olmayanlar	25
2.6. İskelet kası yapısı ve fonksiyonel özellikleri	26
2.7. İskelet kasında iskemi reperfüzyon hasarı patofizyolojisi	27
2.8. Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ)	28
2.8.1. COX yolu	29
2.8.2. Lipooksijenaz yolu	30
2.9. Ketoprofen	32
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	36
3.1. Deney hazırlığı ve cerrahi teknik	36
3.2. Deney grupları	38
3.3. Biyokimyasal işlemler	41
3.3.1. SOD ölçümü	41
3.3.2. MDA ölçümü	41
3.4. İskelet kası dokularının histopatolojik incelenmesi	42
3.4.1. Histopatolojik skarlama	42
3.5. İstatistiksel analiz	43
4. BULGULAR	44
4.1. Biyokimyasal bulgular	44
4.2. Histopatolojik bulgular	56
4.3. İskelet kas dokusuna ait histopatolojik kesitler	65
5. TARTIŞMA	69
6. SONUÇ	77

7. KAYNAKLAR	78
TABLolar VE GRAFİKLER DİZİNİ	88
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ	91
KISALTMALAR	93



ÖZET

Alt ekstremite deneysel iskemi/reperfüzyon modelinde gelişen reperfüzyona bağlı iskelet kas hasarına Ketoprofen'in etkilerinin araştırılması

Amaç:

İskelet kasında oluşan iskemi/reperfüzyon hasarı serbest oksijen radikallerini tutucu antioksidan ilaçlarla düzeltilebilir. Analjezik ve anti-inflamatuvar etkileri nedeniyle non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar bu amaçla en sık kullanılan ajanlardandır. Bu çalışmamızda tek taraflı femoral arter ve femoral ven klemplenmesi sonrası gelişen iskelet kasında (gastroknemius kası) oksidatif stres ve iskelet kası histopatolojisindeki değişimler üzerine bir non-steroid anti-inflamatuvar ilaç olan Ketoprofen'in etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem:

Çalışmada 21 adet Sprague Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar grup 1 (kontrol), grup 2 (iskemi/reperfüzyon) ve grup 3 (iskemi/reperfüzyon + ketoprofen) olacak şekilde 7 şerli 3 gruba ayrıldı. Tüm sıçanlara 12 saatlik açlık sonrasında ketamine HCl 60 mg/kg + ksilazin hidroklorür 10 mg/kg intraperitoneal yolla anestezi uygulandı. Sıçanların ciltleri aseptik olarak hazırlandıktan sonra sağ arka bacakta cilt ve cilt altı doku geçilecek femoral arter ve femoral ven bulunup serbestleştirildi. Femoral arter ve femoral ven atravmatik cerrahi damar askısı ile turnike uygulanarak iskemi oluşturuldu. 120 dakika iskemi sonrası 60 dakika revaskülarizasyon uygulandı. İskemi/reperfüzyon + ketoprofen grubuna iskemi süresinin 60. dk ve 90.dk da intraperitoneal 25 mg/kg dan birer doz Ketoprofen uygulandı. Sonrasında sıçanların kan ve sağ arka bacak gastroknemius kas örnekleri alındı. Biyokimyasal olarak serumda ve gastroknemius kas dokusunda süperoksit dismutaz ile malondialdehit, histopatolojik olarak gastrokinemius kasında kas lifi düzensizliği, hemoraji ve inflamatuvar hücre artışına bakıldı. İstatistiksel analizin değerlendirilmesinde bilgisayar programı olarak IBM SPSS statistics versiyon 22 for Windows 10.0 kullanıldı. Biyokimyasal ve histopatolojik bulguların istatistiksel

olarak gruplar arasındaki anlamlı farklarını belirlemede tek yönlü ANOVA testi, Gruplar arası farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemede Scheffe çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. P değerinin 0.05' den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular:

Serum süperoksit dismutaz ve doku süperoksit dismutaz değerlerine bakıldığında iskemi/reperfüzyon grubu ile iskemi/reperfüzyon + ketoprofen grubu arasında anlamlı farklılık olduğu gösterilmiştir. ($p=0,003$, $p=0,029$). Serum malondialdehid ve doku malondialdehid değerleri kontrol, iskemi/reperfüzyon, iskemi/reperfüzyon+ketoprofen grupları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmasa da özellikle iskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + ketoprofen grupları doku malondialdehid değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlıya yakın değerler elde edilmiştir. ($p=0,052$). Histopatolojik olarak kas lifi düzensizliği, hemoraji ve inflamatuvar hücre artışı açısından iskemi/reperfüzyon + ketoprofen grubunda inflamasyon ve hemorajinin azaldığı ve gruplar arası istatistiksel açıdan sonuçlar anlamlı bulunmuştur. ($p=0,013$, $p=0,005$) Çalışmamızda biyokimyasal ve histopatolojik veriler literatür ile uyumludur.

Sonuç:

Sonuç olarak çalışmamızda bir NSAİİ olan Ketoprofen'in iskelet kası iskemi/reperfüzyon hasarında olumlu etkileri olduğu ve iskemi/reperfüzyon hasarında faydalı katkıları olduğu bulundu. Bu bulguların tam olarak ortaya konması ve pratikte kullanılabilmesi için daha geniş deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: İskemi/reperfüzyon hasarı, Ketoprofen, İskelet kas hasarı, Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar

SUMMARY

Investigating the effects of Ketoprofen on reperfusion related skeletal muscle injury which occurred in lower extremity experimental ischemia/reperfusion model

Aim:

Ischemia/reperfusion injury in skeletal muscles can be fixed by antioxidant agents which bind free oxygen radicals. Non-steroidal anti-inflammatory drugs are the most widely used agents for this purpose, due to their analgesic and anti-inflammatory effects. Aim of this study is to investigate the effects of Ketoprofen, which is a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID), on oxidative stress and changes in histopathology of the skeletal muscle (gastrocnemius muscle) seen after unilaterally clamping of femoral artery and femoral vein.

Materials and Methods:

21 SpragueDawley breed female rats were used in this study. Rats were divided into three groups, each consisted of seven rats, as follows: Group 1 (control), Group 2 (ischemia/reperfusion), Group 3 (ischemia/reperfusion + Ketoprofen). Via intraperitoneal route anesthesia with ketamine HCl 60mg/kg + xylazine HCl 10mg/kg was administered to all rats at the end of fasting for 12 hours. Following aseptic skin preparation, femoral artery and vein were dissected in right hind limb after passing through cutaneous and subcutaneous tissues. Ischemia was achieved by tourniqueting femoral artery and vein with non-traumatic surgical vessel loop. 60 minutes of revascularization was performed right after 120 minutes of ischemia. In ischemia/reperfusion + Ketoprofen group a dose of 25mg/kg Ketoprofen was administered intraperitoneally on the 60th and 90th minutes of ischemia period. Then blood and right hind limb gastrocnemius muscle samples were obtained. Superoxide dismutase and malondialdehyde levels were studied biochemically in the serum and gastrocnemius muscle tissue samples whereas muscle fiber irregularity, hemorrhage and increase of inflammatory cells were studied in gastrocnemius muscle samples. IBM SPSS Statistics version 22 for Windows 10.0 was assigned for the evaluation of

statistical analysis. One-way ANOVA test was conducted to determine the significant differences between the groups regarding the biochemical and histopathological findings. When studying the difference in-between groups, Scheffe Multiple Comparison test was used to reveal which groups resulted in the significance. P value below 0.05 was considered as statistically significant.

Results:

A significant difference was observed between ischemia/reperfusion group and ischemia/reperfusion + Ketoprofen group regarding the serum superoxide dismutase and tissue superoxide dismutase levels ($p=0.003$, $p=0.029$). Even though no difference was noted between control, ischemia/reperfusion and ischemia/reperfusion + Ketoprofen groups when they were compared regarding serum malondialdehyde and tissue malondialdehyde levels; a close to significance result was seen especially between ischemia/reperfusion and ischemia/reperfusion + Ketoprofen groups when tissue malondialdehyde levels were taken into account ($p=0.052$). In histopathological evaluation findings about muscle fiber irregularity, hemorrhage and increase in inflammatory cell counts inflammation and hemorrhage were found to decrease in ischemia/reperfusion + Ketoprofen group; and also there was a significant difference between the groups ($p=0.013$, $p=0$, $p=0.005$). Those biochemical and histopathological findings of our study are consistent with the literature.

Conclusion:

As a result; in our study Ketoprofen, an NSAID, was found to have favorable effects on skeletal muscle ischemia/reperfusion injury and was shown to be useful in ischemia/reperfusion injury. More experimental studies and clinical trials are needed to reveal these findings and to adapt in clinical practice.

Keywords: ischemia/reperfusion injury, ketoprofen, skeletal muscle injury, non-steroidal anti-inflammatory drugs

1. GİRİŞ

İskemi, bir doku veya organa iletilen kan akımının yetmemesi yada akımın tamamen kesilmesi ile oluşan atık ürünlerin dolaşımına uzaklaştırılamamasıdır. Hipoksi, dokuya eksik oksijen gelmesidir. Reperfüzyon ise, enerji gereksiniminin karşılanması ve zararlı son ürünlerin atılması için doku veya organa yeniden kan akımının iletilmesidir. İskemi ve/veya hipoksi iskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarının ilk basamağını oluşturur ve aerobik/anaerobik dengenin anaerobik tarafa kaymasını sağlar (1).

İskemiye maruz kalan hücreler aerobik metabolizma yapamadıklarından anaerobik metabolizma yoluyla gerekli enerjiye ulaşmaya çalışır. Anaerobik yolla açığa çıkan ürünler reperfüzyon olmadığından dokularda birikir. Kan akımının yeniden dokulara ulaşması (reperfüzyonla) dokularda biriken bu ürünlerinden oksidasyonla oluşan son ürünler, dolaşım tekrar sağlandığı için bütün sisteme yayılır(1-3).

İskemi/reperfüzyon hasarı birçok organda (kalp, iskelet kası, karaciğer, akciğer, böbrek ve barsaklar) önemli patolojilere sebep olur. İ/R hasarı organlarda inflamasyona ve sistemik bir yanıtı yol açar. İskelet kasında ekstremit fonksiyonlarının geçici veya kalıcı kaybına hatta uzuv kaybına yol açabilir. (4, 5) Hayati organ tutulumu sonucu (kalp, akciğer, karaciğer, böbrek) ölümle sonuçlanabilecek patolojik sonuçlar ortaya çıkabilir (6, 7).

Reperfüzyon hasarını Haimovici, “Myonefropatik Metabolik Sendrom” olarak tanımlamış ve akut patolojilerde müdahalenin geç kalması sonucu mortalite ve morbidite ile sonuçlanacağını söylemiştir (8, 9).

İskemi/reperfüzyon hasarının nasıl oluştuğunu savunan bir çok hipotez vardır. En kabul edilen hipotez İ/R sonrası oluşan serbest oksijen radikalleridir. Bu radikaller ksantin oksidaz yoluyla ortaya çıkar. Ayrıca mikrovasküler düzeyde polimorf nüveli lökositler (PMNL), kapiller geçirgenlikte artışı, endotelden salgılanan mediatörler, kompleman sistemi, trombosit kümelenmesi İ/R hasarında önemlidir (7).

Reperfüzyon sonrası trombositler iskemik dokuya ilk ulaşanlardır. PMNL birikimi ve endotel aktivasyonu sonucu oluşan mediatörler bunu izler. Trombositler, PMNL ve endotel aktivasyonuna öncülük eder (10, 11).

Aktive olmuş lökositlerden salınan endotelin, platelet aktive edici faktör (PAF), nitrik oksit (NO), sitokin gibi maddeler bunlara ek olarak serbest oksijen radikalleri oluşması endotel hasarı, doku ödemi ve hücre ölümüyle sonuçlanır (12).

Hücre zarı ve mitokondride oluşan tahribatın boyutu olayın geri döndürülebilir bir hasar mı ya da geri döndürülemez mi olduğunu belirler (13). İ/R süresi uzadıkça tahribat şiddetlenir ve hücrelerde geri dönüşümsüz hasara bunun sonucunda da hücre ölümü ile sonuçlanır (14, 15).

İskelet kasının kütlesi büyük olması sebebiyle İ/R hasarında önemli bir rolü vardır. Alt ekstremitte İ/R hasarında olayın gidişatı etkilenen dokunun büyüklüğüyle doğru orantılıdır (16). Alt ekstremitde oluşan İ/R hasarı sebeplerine bakacak olursak; özellikle akut alt ekstremitte damar tıkanıklıkları (emboli ve tromboz), travma, turnike uygulaması, iatrojenik yaralanmalar sayılabilir. Ayrıca abdominal aortaya klemp konması, sepsis sonrası iskemi ve hipovolemi düzeltilmesi ekstremitte İ/R hasarının diğer sebeplerindendir (17).

Alt ekstremitte iskemi cerrahisinde her geçen gün yeni teknikler bulunmasına rağmen reperfüzyon hasarı tam olarak önlenememiş ve bu konuda çalışmalar devam etmektedir (18).

Yapılan bazı çalışmalar İ/R hasarının serbest oksijen radikallerini bağlayan ilaçlarla önlenebileceğini göstermiştir (19). Analjezik ve anti-inflamatuvar ilaçlar özellikle non-steroid anti-inflamatuvar (NSAİ) ilaçlar hasarı azaltmada sık kullanılan ajanlardandır. NSAİ ilaçlar reaktif oksijen radikallerinin düzeyini azaltır aynı zamanda reaktif nitrojen türevlerini (RNS) uzaklaştırıcı etkileri vardır (19).

Ketoprofen bir arylpropionic asit türevidir. Analjezi ve anti-inflamatuvar olarak sıklıkla kullanılır. Bir siklooksijenaz (COX) inhibitörü olan Ketoprofen'in yeni yapılan çalışmalar da serbest oksijen radikallerini bağladığı gösterilmiştir (19). Ancak alt ekstremitte iskelet kası İ/R hasarında Ketoprofen'in etkileri ile ilgili herhangi bir çalışma yoktur.

Bu alışmamızda tek taraflı femoral arter ve femoral ven klemplenmesi sonrası gelişen iskelet kasında (gastroknemius kası) oksidatif stres ve iskelet kası histopatolojisindeki değişimler üzerine bir NSAİ ilaç olan Ketoprofen'in etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu sebeple, ratlarda sağ alt ekstremité İ/R sonrası, serum ve doku örneklerinde malondialdehid (MDA), süperoksit dismutaz (SOD) kapasite ölçümleri değerlendirilmiştir. Ayrıca hemotoksilen eozin (HE) ile boyanmış preparatlarda ışık mikroskobu ile gastroknemius kası doku örneklerinde histopatolojik değerlendirilme yapılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

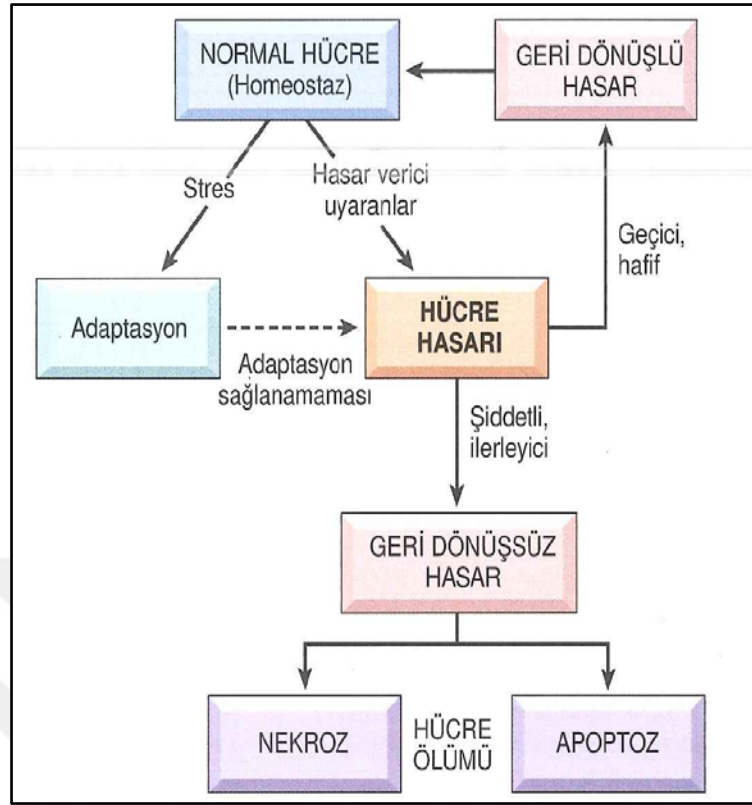
2.1. Hücre

Hücre; vücudun başlıca canlı birimidir. Tüm organlar birçok hücrenin ve hücreler arası destek yapıların sistematik olarak bir araya gelmesiyle meydana gelir. İnsanlarda yaklaşık 100 trilyon hücre olduğu tahmin edilmektedir.

Tüm hücre çeşitleri kendi aralarında belirli işlevleri gerçekleştirmek için uzmanlaşmış ve farklılaşmıştır. Hücrelerin büyük kısmı birbirlerinden farklı yapıda olmasına rağmen temel bazı özellikleri ortaktır. Örneğin; hücrelerin tamamı enerji elde etmek için karbonhidrat, yağ ve proteini oksijen ile tepkimeye sokar ve gerekli enerjiyi elde eder. Bunun sonucunda elde edilen son ürünler hücreleri çevreleyen sıvıya verilir. Ayrıca hücrelerin tamamına yakını kendileri gibi hücreler oluşturur. Yani çoğalma yetenekleri vardır. Özellikle hücre hasarlarında çoğalma yeteneği önem arz eder ve sağlam hücrelerden gereksinim karşılanıncaya kadar hücre çoğalması uyarılır. Her hücre kendi iç ortamının devamlılığını sağlamak için büyük çaba sarf eder buna homeostaz denir. Bu hücre içi normal koşullar devam ettiği sürece hücre yaşamaya ve işlev görmeye devam eder. Eğer bir hücre grubunun hücre içi dengesi yani homeostazı bozulursa vücuttaki diğer hücre grupları da etkilenir ve görevlerini yapamaz duruma gelirler. Bu etkilenmenin derecesi hafif ise hastalıkla sonuçlanır. Ağır ise sonuç ölümdür (20).

2.2. Hücre hasarı

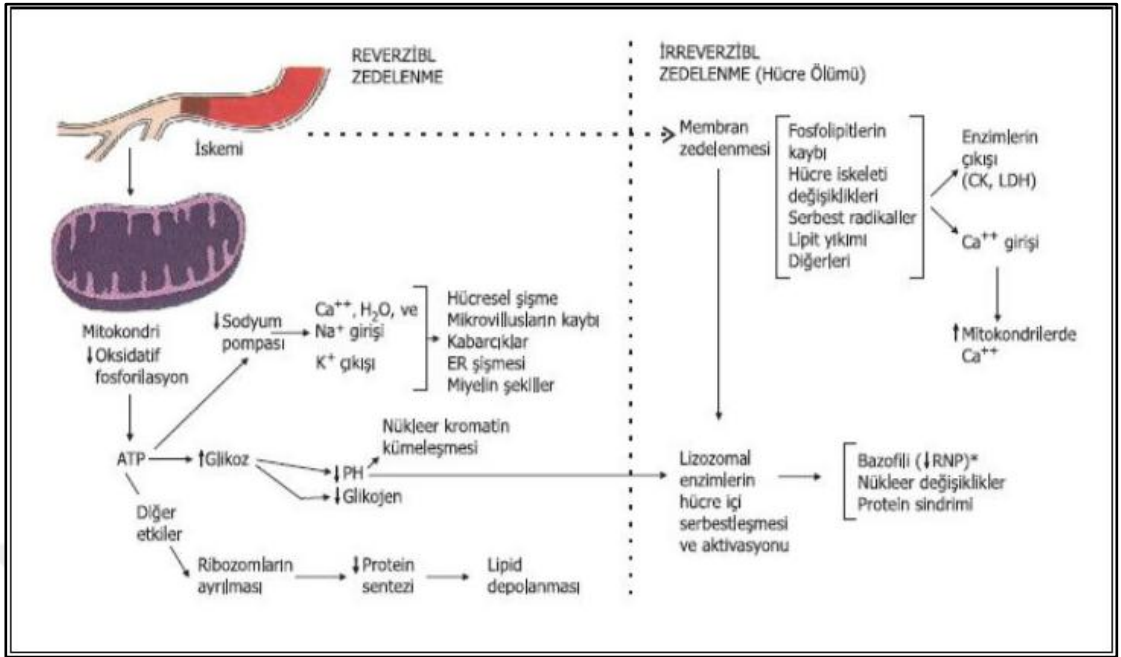
Hücreler bir fizyolojik stres ve patolojik uyarana maruz kalırsa yaşamlarını ve işlevlerini devam ettirmek için uyum (adaptasyon) denen yeni bir kararlı denge oluştururlar. Hücrenin başlıca adaptasyon mekanizmaları hipertrofi, hiperplazi, atrofi ve metaplazidir. Adaptasyon kapasitesi aşılır ya da bu stres hücreye doğrudan zarar verirse hücre hasarı gelişir.



Şekil 2.1 : Hücre Hasarı (21)

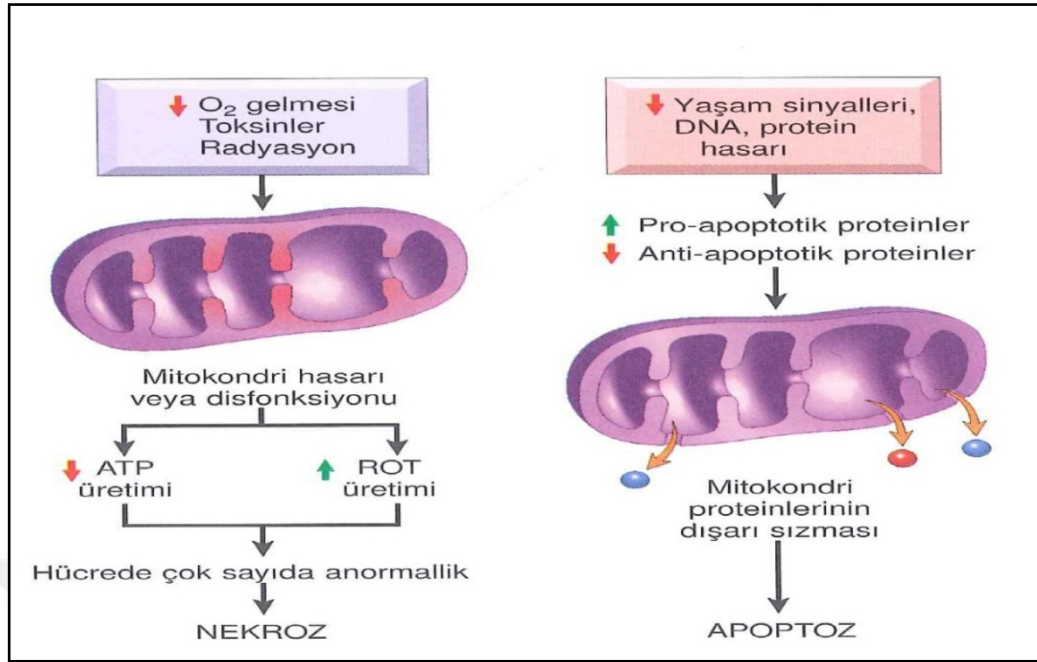
Eğer hasar belirli bir sınır içinde kalırsa geri dönüşümlü (reversibl) bir hasardır ve hücreler ilk zamanki sağlıklı durumlarına geri dönerler. Ancak stres yada patolojik durum şiddetliyse, uzun süreli ise ve hızlı başlamışsa hücrelerin geri dönüşümsüz (irreversibl) şekilde hasara uğraması ve sonucunda hücre ölümüyle sonuçlanır. Hücre ölümü iskemi, infeksiyon, toksinler ve bağışıklık reaksiyonlarının da yer aldığı, çeşitli nedenlerle oluşur. Bir stres veya patolojik durumun adaptasyonu mu başlatacağı yoksa geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz bir hasara mı yol açacağını sadece olayın niteliği değil hücrenin metabolizması, kanlanması ve beslenmesi gibi birden çok faktör belirler.

Geri dönüşümlü hasarda ağır hücre zarı hasarı ve çekirdek dağılması gerçekleşmemiştir. Buna rağmen önemli işlevsel ve yapısal sorunlar mevcuttur. Bu stres ve patolojik durumun devam etmesi hücre zarı ve çekirdeğe zarar vererek geri dönüşümsüz hasara yol açar.



Şekil 2.2 : Geri dönüşümlü (reversibl) ve geri dönüşümsüz (irreversibl) hasar (21)

İki şekilde hücre ölümü vardır; nekroz ve apoptoz. Bu iki tip hücre ölümünün de hastalık ve fizyolojik mekanizmalarda rolleri farklıdır. Hücre zarı hasarı şiddetli ise lizozomal enzimler salınır ve sitoplazmaya geçer. Bunun sonucunda da hücre sindirilmeye başlanır ve nekroz oluşur. Nekrozla sonuçlanan hücre ölümüne iskemi, enfeksiyonlar, travma ve toksinlerin verdiği zarar örnek verilebilir. Apoptozda ise hücre büyüme faktörlerinden yoksun kalır ve hücre DNA'sı, yaşamsal proteinler onarılamayacak şekilde hasarlanır. Apoptozun diğer bir önemli özelliği; membran devamlılığı tam olarak ortadan kalkmadan çekirdeğin dağılmasıdır. Nekroz daima patolojik bir süreçken apoptoz patolojik veya fizyolojik olabilir. Bir diğer fark apoptoz inflamatuvar yanıtı açmaz, nekrozda ise inflamatuvar yanıt gerçekleşir.



Şekil 2.3 : Nekroz ve Apoptoz (21)

Hücre hasarı ve sonucunda görülen hücre ölümünde bir çok kimyasal ve fizyolojik reaksiyon rol alır. Bu reaksiyonlar hücreden hücreye farklılık gösterir. Bu farklılıklar hücrenin stres ve patolojik olaylara dayanıklılığını belirler.

Bunlar;

1-Hücre mitokondrilerinin patolojik koşullarda ATP (adenozintrifosfat) ve reaktif oksijen radikalleri oluşturabilme yetenekleri

2-Kalsiyum dengesindeki değişim

3-Hücre (lizozom) membranlarının hasar görmesi

4-DNA hasarı ve proteinlerin hatalı katlanması

Serbest oksijen radikalleri yörüngelerinde eşleşmemiş elektron içeren maddelerdir. Bu maddeler, aşırı kararsızdırlar. İnorganik ve organik kimyasallarla reaksiyona girerek hücre çekirdeğinde nükleik asitlere ve hücre zarı lipidlerine zarar

verirler. Hücre hasarında serbest oksijen radikallerinin önemi kesin olarak kanıtlanmıştır.

Özetle; ölümcül hücre hasarı gelişmesinde hücre zarı hasarının kritik nokta olduğu, hipoksinin oksidatif fosforilasyonu ve ATP yapımını etkilediği, kalsiyumun hücre ölümüne giden önemli bir mediatör olduğu ve serbest oksijen radikallerinin hücre hasarında rollerinin çok önemli olduğunu söyleyebiliriz (21).

2.3. İskemi ve Hipoksi

İskemi, bir dokuya veya organa iletilen kan akımının yetmemesi ya da akımın tamamen kesilmesi ile oluşan atık ürünlerin dolaşımına uzaklaştırılamamasıdır. Hipoksi, dokuya eksik oksijen gelmesidir. Hipoksinin en sık sebebi iskemidir. İskemi ve hipoksiste mekanizma aerobik/anaerobik dengenin anerobik tarafa kaymasıdır.

Anaerobik metabolizma sonucu oluşan ve iskemik dokuda biriken laktik asit ve toksik son ürünler asidoza yol açar, hücre içi pH düşer. Hücre enzimleri, ATP yapımı azalır sonuçta hücre hayati öneme sahip olan enerjiden mahrum kalır (1-3).

Bu enerji üretimindeki defekt hücre şişmesine, hücre membranında Na^+/Ca^{++} iyon dengesi bozulmasına, hücre içi pH değeri düşmesinde protein sentezi baskılanmasına ve çekirdeğin tahrip olmasına sebep olur (21, 22).

İskemi, akut veya kronik olabilir. Akut iskemide akut iskemik inme, kronik iskemide kronik periferik arter hastalığı örnek verilebilir. Dokuların iskemide dayanıklılığı birbirlerinden farklıdır. Örnek vermek gerekirse iskelet kası iskemide karşı diğer dokulardan daha dayanıklıdır. Sinir hücreleri ise çok dayanıksızdır, dakikalar içinde hasar oluşur (16).

İskemi sebebiyle oluşan hasarın şiddeti, doku dolaşımının bozulma süresi ve dokuya giden kanın miktarı ile orantılıdır. Ayrıca dokunun hücre tipi, stres ve patolojik olaya hassasiyeti, perfüzyon ihtiyacı da hasarın şiddetini etkiler (21).

2.4. Reperfüzyon ve Reperfüzyon Hasarı

Reperfüzyon, enerji gereksiniminin karşılanması ve zararlı son ürünlerin atılması için dokuya veya organa yeniden kan akımının iletilmesidir. Reperfüzyonun, iskemik dokuda enerjinin tekrar üretilmesi ve toksik son ürünlerin atılması gibi önemli ve olumlu etkisi mevcuttur. Yani reperfüzyon iskemik tahribatın onarılması için gereklidir. İskemi oluşmuş ancak halen canlı olan dokularda reperfüzyon hasarı artırır. Reperfüzyon hasarının genişliği dokunun ne kadar iskemik kaldığı ve iskemi şiddetiyle doğru orantılıdır (21-24).

İskemiyle oluşan toksik ürünler dolaşım olmadığı için dokuda birikir. Dokuda dolaşımının tekrar normalleşmesi toksik son ürünlerin oksidasyonuna ve diğer doku ve organlara taşınmasına yol açar. Buda diğer organlarda hasar meydana gelmesine sebep olur. Yapılan çalışmalarda İ/R sonucu oluşan hasarın iskemik hasardan daha fazla zararlı metabolik ürün meydana getirdiği gösterilmiştir (22, 25).

İ/R hasarı serbest oksijen radikalleri, endotel kaynaklı mediatörler, PMNL'ler , ATP azalması ve sonucunda hücre içi Ca^{++} artışı gibi karmaşık olayların sonucu meydana gelir (26). Hücre içi Ca^{++} hızlı artış hasarın oluşmasında kritik öneme sahiptir (27). Ca^{++} mitokondrilerde artması serbest oksijen radikalleri meydana gelmesine sebeptir (28). Reperfüzyon süresince Ca^{++} artışı ve ATP azalması birbirlerini tetikler ve bu süreç kısır döngü oluşturur (22).

İ/R boyunca meydana gelen reaktif oksijen radikallerinin endotel hücrelerini hasarlaması, endotelin sentezinde artış ve NO sentezinde azalmaya yol açar. Bunlarda endotel fonksiyon bozukluğunu tetikler (29). Oluşan hasarı asıl başlatan olayın endotel zedelenmesi olduğu düşünülmektedir (30, 31).

2.5. Reperfüzyon Hasarı Mekanizması

Hücrelerde iskemi sonucu geri dönüşümlü hasar oluşmuş iken perfüzyonun tekrar sağlanması hücreleri iyileştirebilir. Ancak iskemik ve canlı dokulara perfüzyon bazı zamanlarda paradoks şekilde hücrelerin geri dönüşümsüz ölümüne yol açar. Klinik olarak çok önem arz eden bu durum İ/R hasarı olarak tanımlanır (21, 24).

İ/R hasarında bazı önemli faktörler vardır. Bunlar:

- 1-Nötrofiller (PMNL)
- 2-Endotel hücreleri
- 3-Kompleman sistemi
- 4-Serbest oksijen radikalleri
- 5-Hücresinin antioksidan mekanizmalarının iskemiden zarar görmüş olması

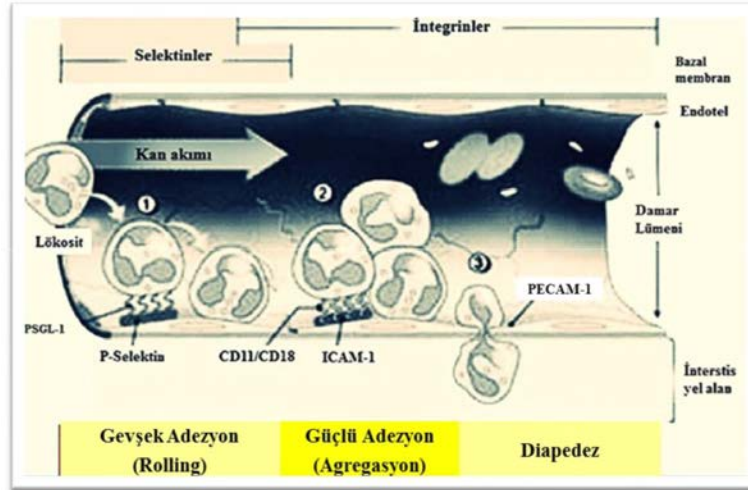
Nötrofiller, endotel hücreleri ve kompleman sisteminin birbirleriyle etkileşmesi çeşitli biyokimyasal reaksiyonlara yol açar ve serbest oksijen radikalleri oluşur. Reperfüzyona bağlı hasarda başrol serbest oksijen radikallerininindir (21, 32).

2.5.1. Nötrofiller (PMNL)

PMNL; İskemi/reperfüzyon hasarında ilk aktif hücrelerdir ve vasküler geçirgenliğin baş sorumlularıdır (33). PMNL ve endotel hücrelerinin aktif hale gelmesi ve aralarındaki etkileşim İ/R hasarı patofizyolojisinde kritik öneme sahiptir. PMNL'nin, lökotrien B4 (LTB₄), kompleman komponent 5a (C5a) ve sitokinler ile etkileşmesi ile PMNL yüzey adezyon molekülü aktive olur. Sonuç olarak PMNL aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit diapedeziyle sonuçlanan olaylar başlar (34, 35).

PMNL'nin dokuya geçmeleri için önce entotele yapışmaları gerekir (adezyon). PMNL'nin aktive olmaları ve göç E-selektin, P-selektin ve L-selektin isimli adezyon molekülleri aracılığı ile olur (36).

Öncelikle PMNL'nin endotel yüzeyinde yuvarlanması (rolling) gerekir. Bu yuvarlanma selektin denen glikoproteinler (lökosit; L selektin / endotel; E ve P selektin) ile olur. Bunlara karşılık gelen yapılar, sialyl-Lewis antijenleridir. Sonuçta endotel ve PMNL arasında güçsüz bir etkileşim oluşur (37). Adezyon oluşturmuş PMNL'de bu yuvarlanma etkisi ; C5a, LTB4, interlökin 8 (IL-8) ve trombosit aktive edici faktör (PAF) aracılığı ile aktive edilir. PMNL üzerinde CD11b/18 molekülleri belirir. Ayrıca endotel hücre yüzeyi Vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) ve hücrelerarası adezyon molekülü-1 (ICAM-1)' i aktifler. Sonuçta PMNL yüzeyinde CD11a, CD11b, CD11c/CD18 ile endotel üzerindeki reseptörleri ICAM-1 ve VCAM-1 reaksiyona girer, sonuçta daha önceki adezyon sıkılaşır ve endotel dışına göç oluşur (15, 38, 39).



PSGL-1: P-selectinglycoprotein ligand-1; ICAM-1: İntersellüler adezyon molekülü-1

PECAM-1: Plateletendothelialcelladhesionmolecule.

Şekil 2.4 : İ/R hasarında lökosit-endotel etkileşimi (38)

İskemi/reperfüzyon hasarında PMNL-endotel adezyonu erken ve geç dönem olmak üzere iki parçadan oluşur.

Erken dönem; PAF ve hidrojen peroksit, geç dönem ise; PAF ve mitokondriyal oksidanlar aracılık eder. (40) Sonrasında endotelden geçen PMNL'ler hedefledikleri dokuya giderler. Bu olaya da diapedez denir. Diapedezde platelet endotelial hücre adezyon molekülü-1 (PECAM-1) ve kemokinlerin rolü büyüktür. PMNL göçü esas olarak venöz kılcallardan olur. Aktive olmuş PMNL'lerden salınan kollajenazlar, bazal membran parçalanması ve PMNL'lerin interstisyel alana gidişinde önemlidir (36).

PMNL kemotaksisi asıl olarak C5a, LTB₄, IL-8 yoluyla olur. Ancak İ/R sırasında oluşan tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), IL-1 β ve PAF gibi mediatörlerin hepsi katkıda bulunur. (41) Kemotaktik mediatörler-PMNL etkileşimi hücre içi Ca⁺⁺ yükselir. Yükselen Ca⁺⁺ değeri sonucu PMNL gideceği tarafa yönelir (21).

PMNL-hücre dışı sıvı adezyonu CD11a, CD11b, CD11c/CD18 ve CD44 aracılığıyla olur (14).

TNF- α ve IL-1 β asıl olarak makrofaj ve mast hücrelerinden sentezlenir. Ayrıca aktive PMNL'ler tarafından da sentezlenebilirler (42, 43). İ/R bölgesinde myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi artar. Bunun PAF sonucu olduğu düşünülmektedir. MPO aktivitesi ile MDA düzeyleri arasında bağıllık vardır. Buda lipid peroksidasyonunun PMNL'den oluşan serbest oksijen radikallerinden kaynaklandığını gösterir (44, 45).

İ/R hasarında ilk gün PMNL baskın hücredir, sonrasında monositler hakim hücre konumuna geçer. Bunun nedeni, PMNL ömürlerinin kısa olmasıdır. Yani erken dönem PMNL, geç dönemde monosit baskın hücrelerdir (21, 36).

İ/R hasarında PMNL elastaz salgılama, serbest oksijen radikalleri salgılama, mikrosirkülasyonu bozma gibi etkileriyle hasara yol açar. Sonuçta PMNL doku hasarını genişletir. Birbirini izleyen bu olaylar bir kısır döngü oluşturur. Bu olaya “no-reflow” fenomeni denir (2, 46-48). Bu durum ilk kez 1967 yılında Majno tarafından “no-reflow” fenomeni olarak tanımlanmıştır. Mikrodolaşım, en uç dolaşım

sistemidir. Dolayısıyla PMNL-platelet ile PMNL-endotel hücre etkileşimi kritik mekanizmadır ve mikrodolaşım tıkanıklığına yol açar (48, 49).

2.5.1.1. Ksantin oksidaz

Phan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada endotel hücrelerin ksantin oksidaz oluşturduğu ve aktive PMNL’lerde ksantin oksidaz aktivitesi yükseldiği gösterilmiştir (50).

İskemi sonrası, dokuda serbest oksijen radikallerinin en büyük kaynağı ksantin oksidaz enzimidir. Bu enzim “dehidrojenaz” ve “oksidaz” aktivitesine sahiptir. Çalışmalarda iskemi sırasında “ksantin dehidrojenaz” enziminin “ksantin oksidaza” dönüşmesi, bağırsakta 10 saniye, kardiyak kasta 8 dakika, karaciğer, böbrek ve akciğerde 30 dakikada olmaktadır. Bu da farklı dokuların İ/R hasarına değişik oranlarda yanıt vermesini açıklamaktadır. Ayrıca Hipoksantin de serbest oksijen radikallerin oluşumunda önemli bir maddedir (22, 51, 52).

2.5.2. Endotel

Endotelin vasküler homeostazdaki rolü şunlardır (53):

- 1-Mikrodolaşım geçirgenliği sağlanması
- 2-Damar kasılması
- 3-Yeni damar oluşumu
- 4-Koagülasyon
- 5-PMNL göçü
- 6-Savunma sistemi

Bu olaylar bazı faktörler tarafından kontrol edilir. En önemli olan sağlam bir endotelial yapının olmasıdır. Endotel hücreleri endotelin ve NO üretir. NO; endotelial derived relaxing faktör (EDRF) diye de bilinir (54). Bu madde damarlarda

dilatasyon yapar (55). Endotelin ise güçlü bir damar kasıcıdır. Endotelde meydana gelen hasarlar bu mediatörlerin oluşmasında bozukluğa yol açar. Damar geçirgenliğinde birden çok mediatör etkilidir. İ/R hasarında bu mediatörlerin salgılanması bozulur. PAF, bradikinin ve histamin bunların başlıcalarıdır. NO ve endotelin salınımında artıştan sorumludur. Bunlar hücre içi ve dışı Ca^{++} sayesinde etki eder. Endotel normalde pürüzsüzdür. Bu pürüzsüzlüğü antitrombin 3 ve trombomodilin sağlar (53, 56).

2.5.2.1. Endotelin

Endotel hücresinden sentezlenir. Hem arteriyel hem de venöz yatakta vazokonstriksiyona yol açar. Bilinen en güçlü vazokonstriktördür (57, 58).

2.5.2.2. Nitrik oksit (NO)

Arjinin aminoasidinin guanido grubunda yer alan nitrojen atomu ile oksijenin reaksiyona girmesi sonucu oluşur. Kısa ömürlüdür (birkaç saniye). NO oluşumdaki enzim nitrik oksit sentaz (NOS) 'dır. Bu enzimin endotel hücrelerinde eNOS, nöronlarda cNOS ve indüklenebilir form iNOS olmak üzere, üç tipi bulunmaktadır. (59) Hepsi NO sentezi sırasında NADPH ve O_2 kullanır. Yapılan çalışmalarda TNF, IL-1 β , interferon γ gibi sitokinlerin iNOS oluşumunu indüklediği, glukokortikoid, IL-13 ve IL-14'ü ise inhibe ettiği gösterilmiştir (60, 61).

NO'nun koruyucu özellikleri arasında; vasküler tonus kontrolü, platelet kümelenmesi engellenmesi, PMNL-endotel etkileşiminin azaltılması, serbest oksijen radikallerin temizlenmesi, damarsal permeabilite düzenlenmesi sayılabilir (58, 59).

Yüksek seviyede NO, asetil kolin uyarısı, iskemi, hipoksi, toksin veya travma sonucu dolaşıma salınır (58). NO siklik guanilat siklazı uyararak damar düz kasında gevşemeye yol açar (62). Süperoksit radikali ile reaksiyona girer, diğer toksik radikallerin oluşması ve doku harabiyetine yol açar. NO'nun çok yüksek konsantrasyonlarda endotel hücreleri, düz kas hücreleri, hepatositler ve fibroblast

gibi farklı hücrelerde ölümcül etkiye yol açtığı gösterilmiştir (63, 64). NO düşüklüğü endotel fonksiyon kaybı ve PMNL bağlı hasarla birliktelik gösterir (15).

2.5.2.3. Platelet aktive edici faktör (PAF)

Endotel hücreleri tarafından membran fosfolipidlerinden üretilir. Fosfolipaz A2 sentezleyen enzimdir. Birçok inflamatuvar olaylarda (örneğin İnflamatuvar barsak hastalığı, glomeruler nefrit) etkinliği gösterilmiştir (22, 65). PMNL-endotel etkileşiminde rol alır. P-selektin ve PAF, CD11c/18 aktivitesini değiştirir. Ayrıca platelet uyarılması, TNF-a üretimi, vazokonstriksiyon ve PMNL adezyonunu, kemotaksisi uyarır, iskemik dokularda SOD aktivitesini etkileyerek hidrojen peroksit birikimini azaltır. Prostaglandin, tromboxan, lökotrien gibi araşidonik asit metabolitlerini de uyarır (21, 36, 66).

2.5.2.4. Histamin ve Bradikinin

Histamin; Akut İnflamasyonda ilk olarak artmış damar geçirgenliğinden sorumludur. Histamin en çok mast hücrelerinden salgınır. Ayrıca bazofiller ve trombositlerden de salgırlar. Mast hücrelerinden histamin salgınımı travma, otoimmün olaylar, anafilatoksin lizozomal enzimler uyarır. Arteriolar dilatasyon ve venüllerde vasküler permeabilite artışına neden olur. Ayrıca eozinofiller için de kemotaktiktir. Histaminaz ile inaktive edilir (67).

Bradikinin; Kininojenden oluşur. Kallikrein enzimi bradikininini oluşturan enzimdir. Bradikinin, Arteriolar dilatasyona, vasküler permeabilite artışına ve ciltte ağrıya neden olur. Kinin sistemde vasküler permeabilite artışından sorumlu öncü maddedir (67, 68).

2.5.2.5. Sitokinler

Aktive makrofajlar, lenfosit ve diğer hücrelerde oluşur. En önemli sitokinler IL-1 ve TNF- α ' dır. Her ikisi de peptid yapıdadır. Diğer bir isimleri proinflamatuvar sitokindir. İ/R hasarında, kanda IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler gözlenir (22, 68, 69).

Etkileri:(67)

1-Sistemik akut faz reaksiyonlarını tetikleyici etkiler (akut faz proteinleri oluşumu, ateş, iştah azalması)

2-Endotelyal etkiler (PMNL adezyonu, PAF aktivasyonu)

3-Fibroblastik etkiler (Kollagen sentezi ve fibroblast farklılaşmasında artış)

TNF- α ' nın interferon-gama (IFN- γ) ile beraberliği sitotoksiktir. TNF- α akut inflamasyonda ve tümör savunmasında en önemli sitokin olduğu gösterilmiştir. Aktive monositler ve fibroblastlar yara iyileşmesinde önemlidir. Bu etkilerini TNF- α ' yı uyarılarak yaparlar. TNF- α üretimi, IL-10, tümör growth faktör- β (TGF- β), prostoglandin E (PGE), siklosporin A, deksametazon, ibuprofen, metilprednizolon ve pentoksifilin tarafından inhibe edilir (67, 68).

IL-1 ise öncelikle antijen sunan hücreler olmak üzere tüm çekirdekli hücrelerden sentezlenebilir (70, 71). IL-1 tüberkülozda ve inflamatuvar barsak hastalıklarında akut faz proteinlerini ve diğer sitokinleri artırır. (71) IL-1 aynı zamanda siklooksijenaz-2 (COX-2), fosfolipaz A2, ve iNOS' un aktivatörüdür. Yani IL-1 uyarılması sonucu yüksek miktarda PGE2 ve NO salgılanır (67, 71).

2.5.2.6. AraşidonikAsid (AA) Metabolitleri

AA poliansütüre yağ asitidir. Fosfolipaz tarafından membran fosfolipidlerinden oluşturulur. Oluşan AA' nın izleyeceği 2 yol vardır. COX yolu ve lipooksijenaz yolu. AA metabolitleri, inflamasyon ve hemostaz gibi birçok olayı

etkiler. Bu ürünlere kısa etkili hormonlarda denir. Lokal olarak etki ederler ve sonra çok hızlı elimine edilirler (21, 72).

AA aşağıdaki 2 yoldan birini izler:

2.5.2.6.1. COX yolu

COX enzimiyle AA' dan önce prostaglandin G2 (PGG2) oluşur. Sonra peroksidaz ile PGH2' ye dönüşür. PGH2' den PGI2 (prostasiklin), tromboksan A2 (TXA2), PGE2, PGD2, PGF2 α oluşur. Tüm dokularda PGH2' yi diğer ürünlere dönüştüren enzim oranları farklıdır. Trombositlerde tromboksansentaz baskındır ve daha çok TXA2 oluşur. TXA2 güçlü bir damar kasıcıdır. Aynı zamanda güçlü platelet agregasyonu yapar. Damar endotelinde prostasiklinsentaz çoktur. PGI2 kuvvetli platelet agregasyon baskılayıcıdır ve güçlü bir damar genişleticisidir, yani TXA2 tam tersi etki gösterir. PGE2, PGD2, PGF2 α ödemi artırıcı etki göster. Aspirin ve ibuprofen gibi non-steroid anti-inflamatuvar ajanlar, proksimal COX aktivitesini baskılayarak prostoglandin sentezini bozar. Bu anti-inflamatuvar ilaçlar lipooksijenaz yolunu etkilemez. (21) COX' un iki formu olduğu gösterilmiştir; COX-1 ve COX-2. Gastrik mukozada COX-1 varken COX-2 yoktur. Bu bölgede COX-1 etkisiyle oluşurlar ve aside bağlı hasarı engellediklerinden koruyucudurlar. NSAİ ilaçlar ve aspirin, COX' u bloke ederek prostaglandin sentezini baskılar, inflamasyonu düşürür, gastrik ülserde de zemin hazırlar (21, 73).

2.5.2.6.2. Lipoksijenaz Yolu:

PMNL'lerde çok fazla miktarda 5-lipoksijenaz vardır. Bu enzim AA'dan, 5-HPETE (5-hydroperoxyeicosatetraenoic acid) ve ondan da 5-HETE (5-hydroxyeicosatetraenoic acid) ve LT' ler oluşur. İlk oluşan LTA4' tür. LTA4 hidrolizle LTB4 (güçlü kemotaktik) ve LTC4, LTD4, LTE4' e dönüşür. LTB4 akut ve kronik inflamasyonda önemli bir mediatördür (21, 67). LTB4 güçlü kemotaktik

bir ajandır. LTC₄ ve onun alt ürünleri LTD₄ ve LTE₄ vazokonstriksiyon, bronkospazm ve vasküler geçirgenlik artışından sorumludur (21).

3 saatlik sadece iskemik periyot sonrası LTB₄ seviyeleri değişmezken, aynı süre İ/R' de LTB₄ seviyelerinde ciddi artış tespit edilmiştir (24).

Özetle, AA metabolitleri yada diğer adıyla eikosanoidler akut inflamasyonun her aşamasında yer alırlar. Eikosanoidlerin inflamasyonun merkezinde rol almaları klinikte COX' u baskılayan ilaçların güçlü anti-inflamatuvar ajanlar olarak tercih edilmesini sağlamıştır (21, 73).

2.5.3. Kompleman

İmmunité ve inflamasyonda önemli rolleri vardır. En önemli eleman C3'tür(68).

kompleman etkileri:

1-Vasküler permabilite artışı: Mast hücrelerinden histamin salınımı ve vasküler geçirgenlik artışından sorumlu olan anafatoksinler olarak adlandırılan C3a ve C5a' dır. Ayrıca C5a inflamatuvar yanıtı artırır. Bunu TNF- α , IL-1 ve IL-2 uyarak yapar (38, 74).

2-Kemotaksis: C5a; PMNL ve monositler için kemotaktiktir. Adezyonda da etkin rol oynar (38).

3-Fagositoz: PMNL ve makrofajlar üzerinde fagositoz yapabilmeleri için reseptörler ve bu reseptörler tarafından tanınırlılığı sağlayan opsonin denen yapılar vardır. C3b bakteriye yapışarak opsonin görevi görür ve bakterinin tanınırlığını sağlayarak fagositoz gerçekleşir (68).

4-Lizis: Membran atak kompleksi olarak bilinen C5b-9 bakteri hücresinde lizis yapar (21, 68).

Kompleman PMNL'lerde; VCAM-1, ICAM-1, E-selektin ve P-selektini, endotelde; IL-1a, IL-8, MCP-1' i uyarır (38, 74, 75).

İskemi/reperfüzyon hasarında komplemanın aktive olması, damar homeostazını bozar ve PMNL adezyonunu uyarır. Buda doku hasarında artmaya neden olur (76).

2.5.4. Serbest oksijen radikalleri

Serbest oksijen radikalleri yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulunduran molekül veya atomlardır. Kısa ömürlüdürler. Serbest oksijen radikalleri sağlıklı hücre metabolizmasında küçük miktarlarda da olsa oluşur, Ancak hücre normal mekanizmasını devam ettirdiğinden dolayı hemen inaktif hale getirilir. Patolojik radyasyona maruz kalma, otoimmün hastalıklar ve İ/R hasarı gibi olaylarda normal mekanizma bozulduğu için inaktif hale getirme işlemi tam olarak işleyemez ve dokuda birikir. Dokularda O_2 'nin %98' i H_2O 'ye indirgenmektedir. Bu normal bir mekanizmadır. O_2 'nin %2' lik kısmı ise süperoksit radikali (O_2^-) ve hidroksil radikali ($OH^\bullet$) radikaline dönüştürülür. Bu normal bir mekanizmadır. Dokularda çeşitli enzimatik reaksiyonlarla O_2^- meydana gelir. O_2^- 'den hidrojen peroksit radikali (H_2O_2) oluşur. Sonra başlıca hücre mitokondrilerinde olmak üzere $OH^\bullet$ oluşur. Ayrıca bunlardan başka H_2O_2 , hipoklorik asit gibi kendisi radikal olmayan, ancak radikal oluşturma gücü olan oksijen türevleride vardır (22, 76).

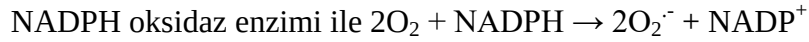
En önemli serbest oksijen radikalleri O_2^- ve $OH^\bullet$ ' dir. Hücreler serbest oksijen radikallerinin hasarlarına adaptif değillerdir. Bu sebeple glutatyon ve katalaz enzimi gibi antioksidanlar serbest oksijen radikallerinin hasarlarından hücreyi korur(1, 77).

Reaktif oksijen bileşikleri	Radikal olmayanlar
O_2^- = Süperoksit	H_2O_2 = Hidrojen peroksit
$OH^\bullet$ = Hidroksil	$^1O_2$ = Singlet oksijen
$HO_2^\bullet$ = Hidroperoksil	$HOCl$ = Hipokloröz asit
$RO^\bullet$ = Alkoksil	$ONOO^-$ = Peroksinitrit radikali
$ROO^\bullet$ = Peroksil	O_3 = Ozon
$NO^\bullet$ = Nitrik oksit	$LOOH$ = Lipid hidroperoksit
$NO_2^\bullet$ = Azot dioksit	

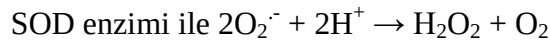
Tablo 2.1: Oksijen bileşikleri (75)

Süperoksit (O_2^-): Serbest oksijen radikalleri içinde toksisitesi zayıftır. Ancak diğer oksijen radikalleri oluşumunda kritik öneme sahiptir. pH düşük olduğu durumlarda hidroperoksil oluşur (1).

Süperoksit oluşumu:

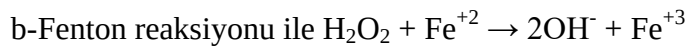
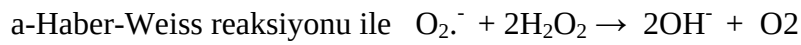


Süperoksit temizlenmesi:



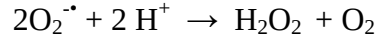
Hidroksil ($OH^\bullet$): Ömürleri çok kısa ancak fazlasıyla reaktiftir. Sentezlendiği yer çevresinde aktiftir (1).

Hidroksil oluşumu;

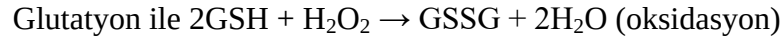
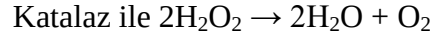


Hidrojen peroksit (H_2O_2): Uzun ömürlüdür, Tek başına radikal olarak değerlendirilemez. Oksidan ve redüktan özellikleri zayıftır (1, 75).

Hidrojen peroksit oluşumu:



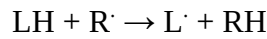
Hidrojen peroksit temizlenmesi:



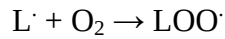
Serbest oksijen radikalleri bu reaksiyonlar sonucunda lipid, protein, karbonhidrat ve nükleik asit hasarına yol açar (1, 36, 52).

2.5.4.1. Serbest oksijen radikalleri hasar mekanizmaları

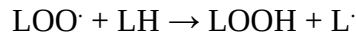
Lipid Peroksidasyonu; Hücre zarı yapısındaki araşidonik asit, linoleik asit ve linolenik asit gibi yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri ile reaksiyona girmesi ve oksidasyona uğraması ile karakterizedir (77). Serbest oksijen radikallerinin hücrede en önemli yıkıcı etkisidir (22). $OH^{\cdot}$ ve/veya $O_2^{\cdot-}$ radikali membran lipidlerinden H^+ çıkararak lipid peroksidasyonunu başlatır (44).



R: Radikal



L: Lipid



Şekil 2.5: Lipid peroksidasyonu (36)

Bu peroksidasyon reaksiyonu lipid zinciri bitene kadar yada bir antioksidan sistem tarafından durdurulana kadar devam eder. Sonuçta aldehit ve diğer karbomil bileşiklere dönüşmesiyle son bulur (44).

Lipid peroksidasyonu biyolojik membranlarda akıcılığın kaybına, membran potansiyelinde azalmaya, hidrojen ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğin artışı neticesinde hücre hasarına ve içeriğinin serbestleşmesine neden olur (30).

Bu peroksidasyonun son ürünü olarak MDA ve lipid hiperoksitlerinin parçalanmasıyla oluşan etan, pentan gibi gazlar lipid peroksidasyonu tayininde kullanılabilir (44, 78).

Lipid peroksidasyonu klinikte İ/R hasarı başta olmak üzere, travma, immün ve otoimmün hastalıklar, radyasyon maruziyeti, yaşlanma, vitamin eksikliği gibi bir çok hastalığın patofizyolojisinde rol alır (22).

Serbest oksijen radikallerinin DNA ve nükleotid yapılı enzimleri harap etmesi sonucu adenin ve piridin nükleotid harabiyeti, protein ve lipidle kovalen bağlantılar yapması, protein yapılı enzimlerin tahrip olması, kalsiyum dengesi bozulması ve buna bağlı hücre hasarı diğer hasar mekanizmaları arasında sayılabilir(30).

2.5.4.2. İ/R hasarında serbest oksijen radikallerinin rolü

Dokuların tekrar oksijenlenmesi sırasında, parankimal hücreler, entotel hücreleri ve aktiflenmiş PMNL' lerden fazlaca serbest oksijen radikalleri ortaya çıkması iskemik dokuda yeniden hasara yol açar. Oksijen miktarı ne kadar fazla ise serbest oksijen oluşma miktarı da o kadar fazladır. Bunun nedenleri mitokondri hasarı ve buna bağlı oksijenin tamamının indirgenememesi, PMNL ve endotel hücresi gibi hücrelerdeki oksidaz enzimleri ile hücrelerdeki antioksidan sistemlerinin hasara uğramasıdır (21).

İskemik dokularda demirin transferinden serbest kaldığı ve OH[•] radikali oluşturduğu deneysel olarak kanıtlanmıştır. İskemi sırasında Ca⁺⁺ konsantrasyonu artar buda ksantin dehidrogenazı ksantin oksidaza dönüştürecek proteazları harekete

geçirir. Ayrıca ATP miktarında azalma ve AMP miktarında artmaya bağlı hipoksantinde artma olur. Hipoksantin, ksantin dehidrogenazla metabolize olur ve toksik serbest oksijen radikalleri ortama salınır. Ayrıca hücre içi pH düşmesi transferinden demir serbestlenmesine sebep olur. Buda fenton reaksiyonu ile OH[•] oluşmasına yol açar. Plazmada serbest iyonik demir bulunmaması hücre dışı sıvılarda serbest oksijen radikalleri oluşumunu engelleyen birincil sistemdir (50).

Haber-weiss reaksiyonunu da serbest demir iyonunun katalize edeceği gösterilmiştir. PMNL ve diğer inflamatuvar hücreler plazmada membrana bağlı NADPH oksidaz sistemini harekete geçirip serbest oksijen radikalleri oluşturur (50).

Sonuç olarak İ/R hasarında serbest oksijen radikallerinin çok önemli bir rolü vardır ve birçok biyokimyasal mekanizma ile hasara yol açar (21, 78).

2.5.5. Serbest oksijen radikallerine karşı savunma sistemleri

Serbest oksijen radikalleri zararlarına karşı hücrelerde meydana gelen biyokimyasal olaylardır. Bunlara antioksidan reaksiyonlar denir. Hücrelerde sürekli serbest oksijen radikalleri oluşur ve antioksidan mekanizmalar sayesinde zararlı etkiler oluşturmaktan uzaklaştırılır. Eğer bu denge bozulur ise oksidasyon artar ve serbest oksijen radikalleri zararlı etkileri ortaya çıkar (12, 79).

Serbest oksijen radikallerine karşı beş antioksidan mekanizma vardır (1).

- 1-Oluşan radikallerin elimine edilmesi.
- 2-Radikal zincir reaksiyonlarının kırılması.
- 3-Antioksidanların aktivitesinin artırılması.
- 4-Hasarlı yapının tamir edilmesi, edilemiyorsa yok edilmesi.
- 5-Metal iyonlarının radikal oluşturmalarını engelleme.

2.5.5.1. Antioksidanlar

2.5.5.1.1 Enzim yapısında olanlar

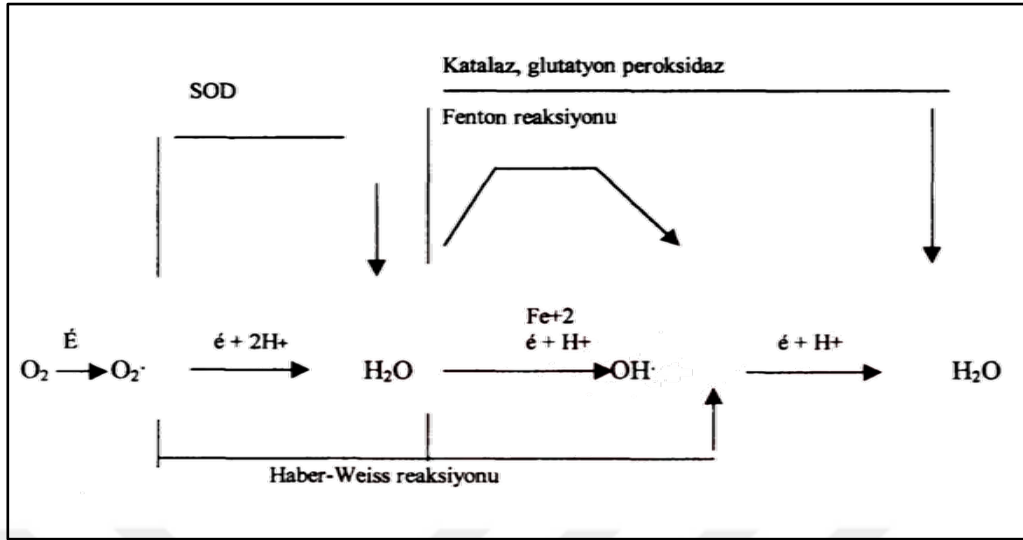
Enzim	Görevi
Süperoksid dismutaz (SOD)	O_2^- radikalinin H_2O_2 ' ye dismutasyonu
Glutasyon peroksidaz	H_2O_2 ' yi ortadan kaldıran başlıca enzim
Katalaz	H_2O_2 'yi ortadan kaldıran enzim

Tablo 2.2: Enzim yapısında antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD): O_2^- radikalinin H_2O_2 ' ye dismutasyonunu katalize eder (80).

Glutasyon peroksidaz: SOD' un oluşturduğu H_2O_2 ' yi elimine eden en önemli enzimdir. Yapısında selenyum içerir glutasyon oksidaz ve glutasyon redüktaz ile H_2O ve glutasyon oluşur (80, 81).

Katalaz: Peroksizomlarda üretilir. Hidrojen peroksitten su ve oksijen oluşturur (1, 79). Katalaz ve glutasyon peroksidaz enzimleri hidrojen peroksidin eliminasyonunda etkilidir (1).



Şekil 2.6: Antioksidan enzim reaksiyonları (78)

2.5.5.1.2. Enzim yapısında olmayanlar

Bunlardan Ferritin, transferrin, haptoglobin, hemopeksin, seruloplazmin, albumin metal iyonlarını bağlayarak; askorbik asit, ürik asit, bilirubin, ubikinol, flavonoidler, vitamin E, tiyoller, tokoferol radikal zincir reaksiyonlarını kırarak (serbest radikalleri süpürerek) etki gösterirler. Ayrıca mannitol, allopürinol, oksipürinol, kalsiyum kanal blokörleri (verapamil, nifedipin), ibuprofen, salisilik asit, siklosporin, deferroksamin, beta blokörlerden metoprolol ve karvedilol, antiaritmik bir ilaç olan amiodaron farmakolojik antioksidanlara örnek gösterilebilir (1, 82, 83).

Özellikle vitamin C, vitamin E ve melatoninin önemli antioksidan etkilerinin olduğu birçok çalışma gösterilmiştir. Vitamin E eksikliğinde oksidatif strese bağlı miyokard hasarlarının arttığı. Vitamin E tedavisinin kasılma fonksiyonlarına olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir (1, 83, 84).

2.6. İskelet kası yapısı ve fonksiyonel özellikleri

Vücut ağırlığının yaklaşık % 40 kadarını iskelet kası oluşturur ve kasların yaklaşık % 70-75 kadarını su oluşturur. İskelet kası embriyonel olarak mezoderma'dan gelişir.

İskelet kası periferik yerleşimli çok sayıda çekirdek içeren, dıştan sarkolemma denilen bir zar ve sarkoplazma denilen sitoplazmayla çevrili uzun liflerden oluşur. Sarkoplazma içinde çok sayıda miyofibril içerir. İçlerinde çok sayıda protein yapıları mevcuttur. Kontraksiyon olayında gerekli enerji ATP, fosfokreatin ve glikojenden üretilir. Fosfokreatin metabolizması sonucu oluşan ürün ATP' nin yeniden yapımında kullanılır.

Kas kasılma sırasında gerilimi değişmez, boyu kısalırsa buna izotonik kasılma eğer boyu kısalmaz, gerilimi artarsa buna da izometrik kasılma denir. Kaslar uzun süre uyarıya maruz kalır ise bir süre sonra yorulur ve kasılmaları ufalır. Bunun sebebi kas dokusunda biriken laktik asittir. Laktik asit veya diğer metabolizma atık ürünleri yüksek miktarda oluşursa tetani görülür.

Kas lifleri her birini endomysium denen bir ince bağ dokusu sarar.bir kaç kas lifini saran bağ dokusuna perimysium internum ,bu şekilde bir çok kas demetini saran bağ dokusunada perimysium externum denir.en dışta ise tüm kası kuşatan fascia olarak nitelendirilen bağ dokusuyla epimysium ile kaplıdır.

Miyofibriller aktin ve miyozin iplikçiklerinden oluşur. Her bir kas lifi yüzler hatta binlerce miyofibril içerir. Aktin ve miyozin iplikçikleri kasılmadan sorumlu proteinlerdir. Aktin ve miyozin moleküllerini bir arada tutan molekül protein yapısında olan titindir. Titin; kas kasılmasında esnekliği ve aktin-miyozin bağlantısı kurmasında kilit rol oynar. Ayrıca kas kasılmasında ve kasılmanın kontrolünde asetilkolin, Na^+ , K^+ , Ca^{++} , troponin (I ,T ve C), tropomiyozin, ATP, ADP gibi moleküllerde önemli rol oynar (20, 85).

2.7. İskelet kasında iskemi reperfüzyon hasarı patofizyolojisi

Ekstremitelerde arteriel kan akımının sekteye uğraması ve sonrasında kan akımının tekrar sağlanması hastalarda geçici veya kalıcı etkiler oluşturur (53). Revaskülarizasyon sonrası oluşacak etkileri ilk olarak 1960 yılında Haimovici “myonefropatik metabolik sendrom” olarak isimlendirmiştir (86). İ/R sonrası hasarın azaltılması için fasyatomi etkinliği, 1964’ de Patven, Pavlos ve Shires tarafından 76 kişilik bir hasta grubu üzerinde kas ödemi azalttığı gösterilmiştir (87).

İskelet kası, ekstremitenin en büyük parçasıdır ve İ/R hasarında en çok etkilenen dokudur. Dolayısıyla iskelet kası hasarı ekstremitte İ/R hasarının en önemli komponentidir. Kasta geri dönüşümsüz hasar erken dönemde yaklaşık 4. Saatte başlar. Bacağın ön grup kasları iskemiye daha dayanıksızdır. Sebebi enerji üretiminin aerobik yolla olmasıdır. Bacağın arka grup kaslarının enerji üretiminde anaerobik yol ilk sıradadır. Bu sebeple iskemiye daha dirençlidir. Ayrıca ekstremitte distali daha hızlı ısı kaybettiğinden ekstremitelerin distali proximaline göre iskemiye daha dirençlidir (36, 87).

İskemide çeşitli derecelerde görülen metabolik asidoz asit artıklarının birikmesine ve aerobik solunumun belirgin azalmasına yol açar. Sonucunda anaerobik solunum devreye girer. Buda kanda ve dokularda laktik asit ve pürivat oluşmasına, dengenin laktik asitten yana kalmasına yol açar. Kan pH, CO₂, bikarbonat seviyeleri düşer. Revaskülarizasyondan önce pH değeri 7,2’ den düşükse prognoz kötüdür. Revaskülarizasyondan sonra tamponize tedavi uygulanmalıdır (53, 88, 89).

İskemi revaskülarizasyonundan sonra kanda K⁺ artar. 6 saatten az iskemi süresi olanlarda tedavi kolay iken, uzun süreli iskemi sonrası revaskülarizasyon olgularında ani, dirençli potasyum yükselmeleri kardiyak arreste yol açabilir (78).

İ/R sonrası serumda kreatin fosfokinaz (CPK), myoglobin, laktat dehidrogenaz (LDH), serum glutamik oksaloasetik transaminaz (SGOT), serum glutamik pürivik transaminaz (SGPT) enzimleri yükselir. Bunlardan CPK artışı çizgili kas harabiyetinin kesin kanıtıdır. LDH, myoglobin , SGPT ve SGOT artışı da

iskemi boyutuyla kolerasyon gösterir. SGPT ve SGOT' ta düşmeyen yüksek değerler irreversibl hasarın göstergesidir. LDH ve CPK' nın farklı alt tipleri vardır bunlardan kalp kası hasarında LDH1 ve LDH2 yükselirken, LDH4 ve LDH5 iskelet kas harabiyetinde yükselir. Benzer olarak myokard hasarlarında CPK alt tipi olan CPK-MB artarken CPK-MM iskelet kası harabiyetinde artar (8, 53).

Sonuç olarak; iskelet kası İ/R hasarında metabolik olayların ana sebebi oksijenasyon bozulması ve aerobik solunumun anaerobik tarafa kaymasıdır. Bunun sonucunda laktik asidoz, reperfüzon sonrasında açığa çıkan serbest oksijen radikalleri reversibl ve irreversibl hasara yol açar. Mikrovasküler düzeyde ise nötrofiller (PMNL), endotel hücreleri, kompleman sistemi ve bunlardan salınan kimyasal mediatörler hasarda başroldedir (22, 38, 90).

2.8. Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar (nsaii)

İnflamasyon; travma, zararlı kimyasal maddeler veya mikrobiyolojik ajanlar tarafından meydana gelen doku hasarı sonrası normal bir koruma reaksiyonudur. Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlardan (NSAİİ) ilk kez 1820' de kolşisin, 1860'da salisilik asitin tanımı yapılmıştır. İlk Aspirin tableti 1897' de Felix Hoffman sentezlemiştir. 1971' de John R. Vane ilk defa COX enzimini tanımlamış bu buluşuyla “Nobel ödülü” ne layık görülmüştür (91).

NSAİİ' ler kimyasal yapılarına göre asidik, nonasidik ve koksib olmak üzere 3 gruba ayrılır (73).

I.Asidik yapıdaki deriveler	
1. Karboksilik asit deriveleri	
1. Salisilik asit ve esterleri	Aspirin, Diflunisal, Kolin salisilat, Metil salisilat, Magnezyum Salisilat, Salisil salisilat (salsalat)
2. Fenamik asitler	Flufenamik asit, Metafenamik asit, Meklofenamik asit, Niflumik asit
3. Propronik asitler	Ibuprofen, Naproksen, Flurbiprofen, Fenbufen, Benaksopropen, Fenoprofen, Ketoprofen, İndoprofen, Tiaprofenik asit, Soprofen, Karprofen, Oksaprozin, Pirofen
4. Asetik asitler	Diklofenak, İndometazin, Etodolak, Sulindak, Tolmetin
2. Enolik Asitler	
1. Pirazolonlar	Fenilbutazon, Oksifenbutazon, Azopropazon
2. Oksikamlar	Piroksikam, Pesoksikam, Sudoksikam, Tenoksikam, İsoksikam
II. Asit olmayan deriveler	Nabumeton
III. Koksibler*	Rofekoksib, Selekoksisb, Valdekoksisb, Parekoksisb, Etorikoksib, Lumirakoksib

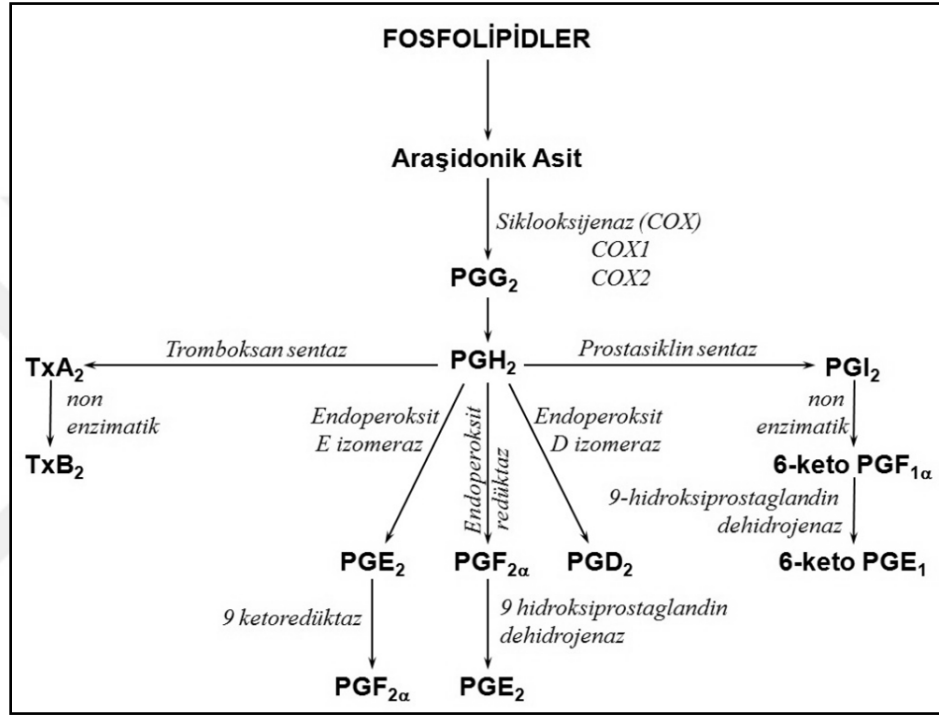
Tablo 2.3: Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçların grupları

NSAİİ' lerin hepsi etkilerini prostoglandin sentezini azaltarak gösterirler. Prostoglandinler 20 karbonlu bir yağ asidi olan AA' dan sentezlenir. AA hücre zarı fosfolipidleri yapısında bulunur. Fosfolipaz A2 ve diğer açıl hidrolazlar ile serbest hale gelir. Eikozanoidler olarak adlandırılan 20 karbonlu bileşiklerin AA' dan sentezlenmesi iki yolla olur (73).

2.8.1. COX yolu

Prostoglandinler, tromboksanlar ve prostasiklinler bu yol ile oluşur. İki çeşit COX vardır. siklooksijenaz 1 (COX-1) ve siklooksijenaz 2 (COX-2).COX-1 prostonoidlerin normal zamanlarda üretiminden sorumluyken, COX-2 hastalık ve inflamasyon durumlarında yapılan prostanoidlerin üretiminden sorumludur. COX-1 ve COX-2 birbirinden substrat bağlama ve katalitik bölgeler açısından farklıdır bu farklılık COX-2' ye özel inhibitörler geliştirilmesini sağlamıştır. Ayrıca COX-2' nin

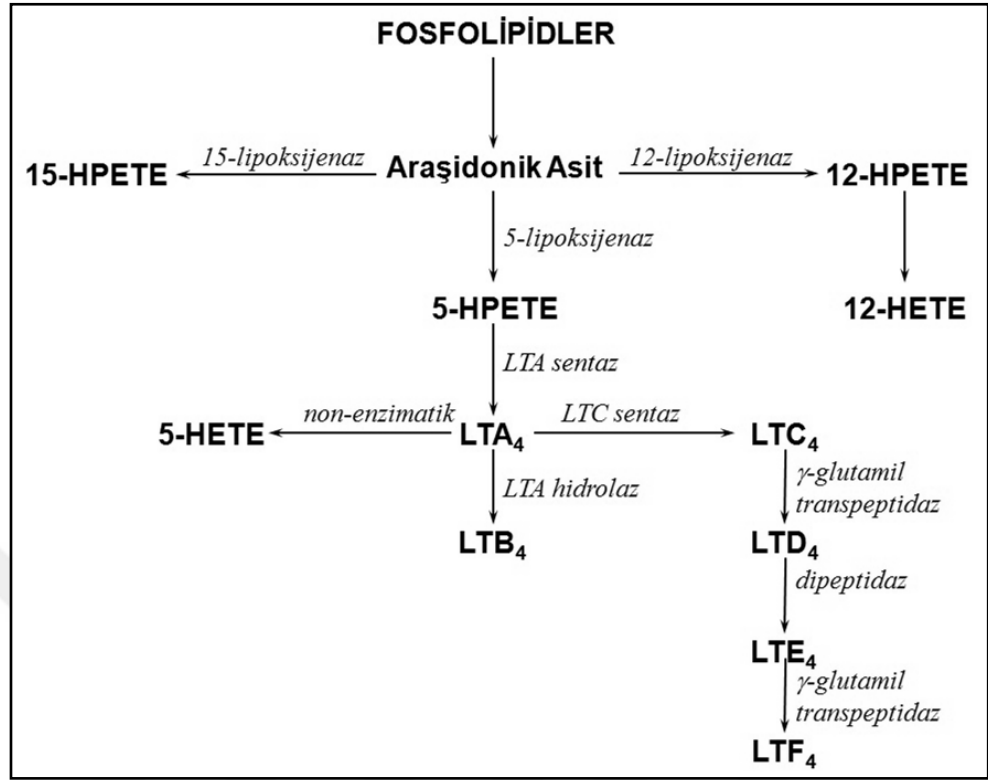
bir diğer farkı glukokortikoidler tarafından inhibe edilmesidir. (73, 92, 93) Simmons 2002' de COX-3 enzimini bulmuş, parasetamol (acetaminophen) ile ilişkisini araştırmıştır. Parasetamolün ağrı ve ateş düşürücü etkisini COX-3 inhibisyonu ile oluşturduğunu savunmuştur (94).



Şekil 2.7: Araşidonik asit (AA) metabolizması siklooksijenaz (COX) yolu

2.8.2. Lipooksijenaz yolu:

Lipooksijenazlarla AA' dan HPETE, 12-HPETE, 15-HPETE sentezlenir. Bunlarda HETE' lere, LT' lere veya lipoksinlere dönüşür. LTB4 güçlü kemotaktiktir. LTC4, LTD4, LTE4 bronkokonstriksiyon, pulmoner kan basıncında artış, arteriel vazokonstriksiyon, Kapiler permeabilite artışında etkilidir. Özellikle İ/R hasarında LT' lerin önemli rolleri vardır (93).



Şekil 2.8: Araşidonik asit (AA) metabolizması lipooksijenaz yolu

NSAİİ' ler; COX enzimini bloke eder ve COX ürünleri sentezini azaltır. NSAİİ' in anti-inflamatuvar etkilerini COX enzimini bloke etme güçleri belirler. Glukokortikoidler ise daha güçlü anti-inflamatuvar etki gösterir. Çünkü glukokortikoidler direkt olarak fosfolipaz A2' yi inhibe eder yani hem siklooksijenaz hem lipooksijenaz yol inhibe olur. NSAİİ' ların COX-1 ve COX-2 enzim üzerine olan affiniteleri aynı değildir. COX non-selektif inhibisyonda COX-1 enziminin de baskılanması sonucu yan etkiler oluşur. Selektif inhibisyonda bu yan etkiler oluşmaz(73, 92, 93).

COX inhibitörlerinin selektivitesine göre sınıflandırması (73, 95):

1. COX-1 spesifik ajanlar: Aspirin gibi(300 mg dan az olmak kaydıyla)
2. COX non-spesifik ajanlar: Çoğu NSAİİ' ler (her iki enzim inhibisyonu)

3. COX-2 selektif ajanlar: Teropatik dozlarında COX-2 inhibisyonu yapar, doz arttıkça COX-1 inhibisyonuda yapar. (meloksikam, nabumetane, nimesulid vb)

4. COX-2 spesifik ajanlar: Maksimum teropatik dozda bile COX inhibisyonuna neden olmayanlar (selekoksib, rofekoksib vb)

NSAİ ilaçların anti-inflamatuvar etkinliklerini sağladığı diğer mekanizmalar(73, 93, 95).

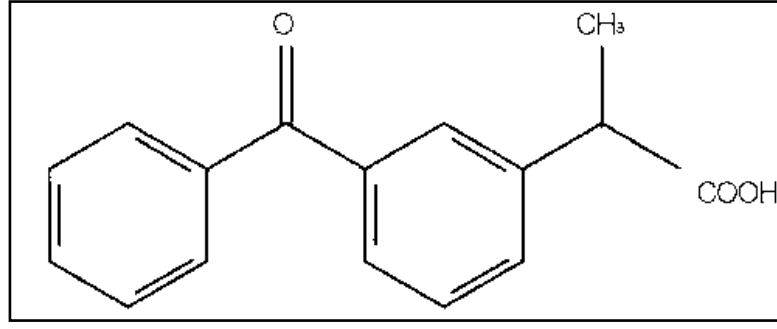
1. PMNL aktivasyon ve inhibisyonu; Prostaglandinler PMNL, monosit ve makrofajları aktive ederler. Bu ilaçlarla prostaglandin sentezini baskılar.

2. Serbest oksijen radikalleri inhibisyonu ve sentezini engelleme; COX ve lipooksijenaz yolu ile çok miktarda serbest oksijen radikalleri oluşur. Bazı NSAİİ'ler bu radikalleri inhibe eder ya da sentezini engeller.

3. Lizozom stabilizasyonu: NSAİİ 'ın çoğu, lizozomal enzimlerin salınmasını engeller.

2.9. Ketoprofen

Ketoprofen arylpropionic asit türevi olan ve NSAİ bir ilaçtır. İnflamasyon ve ağrı tedavisinde yaygın olarak kullanılır. Yapısal formülü (2- (3- benzolphenyl) - propiyonik asit), moleküler ağırlığı 254,29' dur. İlk 1967 yılında Rhone-Poulenc Research Laboratories, Paris tarafından sentezlenmiş ve klinik kullanım için onaylanmıştır. Kapsül, enjekte edilebilir çözelti, fitil ve topikal jel gibi formları mevcuttur (96, 97).



Şekil 2.9: Ketoprofen (2- (3- benzolphenyl) -propiyonik asit) yapısal formülü (98)

Prostaglandin sentezini inhibe ederek; merkezi ve periferik analjezik, antipiretik ve anti-inflamatuvar etkinlik gösterir. Trombosit işlevlerini kısa süreli olarak inhibe eder. Diğer NSAİİ' ler gibi, Ketoprofen'in de merkezi etkisiyle analjezi ortaya çıkardığı gösterilmiştir (98, 99).

Ketoprofen'in çeşitli hayvan modelleri üzerinde (sıçan, fare, tavşan, domuz ve güvercin) yapılan çalışmalarında akut inflamasyona (artmış vasküler geçirgenlik, ödem ve eritem), subakut inflamasyona (plörezi, apse ve granülom oluşumu), ve kronik inflamasyona (deneysel artrit ve sinovit) karşı güçlü etkinliği olduğu gösterilmiştir. Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada bu etkinliklerin İbuprofen' den 20 kat, fenilbutazon' dan 80 kat güçlü olduğu, Aspirin' e göre ise inflamasyonu azaltmada 160 kat daha güçlü olduğu gösterilmiştir (98, 100).

Ketoprofen bir diğer özelliği COX yolunu inhibe ettiği gibi lipooksijenaz yolunda inhibe etmesidir. Vasküler geçirgenliği sadece LT' ler (LTB4, LTC4, LTD4) atırırken, PMNL göçünün uyarılmasında HETE ve LT'lerin ikiside etkili olduğu gösterilmiştir. Ketoprofen'in hücre aracılı inflamasyonun baskılanmasında ve inflamasyona bağlı ilerleyici doku yıkımının geçikmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (101).

Ayrıca ketoprofen, Bradikinin' in güçlü bir inhibitörüdür. Bradikinin ağrı ve inflamasyon oluşumunda rol alan bir mediatördür. Yapılan çalışmalarda Ketoprofen'in ağrı ve inflamasyon baskılanmasında önemli bir ajan olduğu gösterilmiştir (102).

Ketoprofen kanda %99 plazma proteinlerine (çoğunlukla albümine) bağlanır. Yarılanma ömrü yaklaşık 2 saattir ve 2 saatte maksimum plazma seviyesine yükselir. Kan-beyin engelini ve plasentaya geçtiği gösterilmiştir. Ketoprofen, karaciğerde, esas olarak glukuronokonjugasyon daha az olarak da hidroksilasyonla metabolize olur. Uygulanan dozun % 1' inden azı idrarda değişmemiş olarak saptanırken, konjugasyonla oluşan metaboliti dozun % 65-75' ini oluşturur.

Atılımı temel olarak idrar yoluyla ve hızlıdır. Kullanılan form, Ketoprofen'in böbreklerle atılımını etkilememektedir. Yaşlılarda emilim değişmez ancak eliminasyon yarılanma süresi uzar. Alkolik sirozlu hastalarda, büyük ihtimal hipoalbuminemi nedeniyle, proteinlere bağlı olmayan ketoprofen miktarının artmış olduğu saptanmıştır. Böbrek işlevleri bozuk olan kişilerde, ketoprofen klirensinde böbrek yetmezliğinin ağırlığına paralel bir azalma gözlenmektedir (98, 103).

Tüm NSAİ ilaçlarda olduğu gibi gebelikte ve emziren annelerde kullanılması önerilmez. Bu yan etkiler ratlarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. (gebelik katagorisi B) (98, 102).

Ketoprofen'in yan etkileri (73, 98, 102, 103):

1-Gastro-intestinal yan etkiler: Bulantı, kusma, diyare, konstipasyon gibi gastro-intestinal bozukluklar. En önemli gastro-intestinal yan etkileri gastroduodenal ülser, gastro-intestinal kanama ve intestinal perforasyondur.

2- Alerjik reaksiyonlar: Çok nadiren anjiyonörotik ödem ve anafilaktik şok gözlenebilir. Döküntü, pruritus, ürtiker diğer alerjik yan etkilerdir.

3-Cilt reaksiyonları: Fotosensitivite, alopesi ve nadiren büllöz dermatit (Stevens-Johnson Sendromu, Lyell Sendromu)

4-Göz ve kulak yan etkileri: Bulanık görme ve tinnitus

5-Böbrek yan etkileri: Altta yatan böbrek bozukluğuna bağlı olarak akut böbrek yetmezliği, nadiren interstisyel nefrit, nefrotik sendrom

6-Hematolojik yan etkileri: Trombositopeni, kronik kan kaybına bağlı anemi, nadiren agranülositoz

7-Karaciğer yan etkileri: Transaminaz düzeyleri yükselebilir, nadiren hepatit

8-Kardiyovasküler yan etkileri: Hipertansiyon ve ödem.

Ketoprofen ilaç etkileşimleri (98, 102, 103):

1-Yüksek doz salisilatlar dahil NSAİİ'ler: Gastro-intestinal ülserasyon ve kanama riski arttığından, birlikte kullanımları önerilmez.

2-Oral antikoagülanlar ve parenteral heparin: Trombosit işlevlerinin inhibisyonuna ve gastroduodenal mukoza hasarına bağlı olarak kanama riski arttığından birlikte kullanımları önerilmez

3-Lityum: Tüm NSAİİ' lerde olduğu gibi, böbreklerden lityum atılımının azalmasına bağlı olarak lityum plazma düzeylerinin toksik düzeylere çıkması oluşabilir.

4-Metotreksat: Metotreksat'ın, proteinlere bağlanmasının ve böbreklerde klirensinin azalmasına bağlı, hematolojik toksisitesinde artma riski vardır.

5-Diüretikler, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ACEİ): Böbreklerde prostaglandin sentezinin azalması ve akut böbrek yetmezliği riski bulunur.

6-Hiperkalemi oluşturan ilaçlar: Potasyum tuzları, potasyum tutucu diüretikler, ACEİ, anjiyotensin II reseptör blokerleri, NSAİİ' ler, heparinler, (düşük molekül ağırlıklı ve fraksiyone olmayan), siklosporin ve takrolimus, trimetoprim gibi bazı ilaçlar hiperkalemiye yol açabilir. Bu ilaçlara beraber kullanımı hiperkalemi riskini artırır.

7-β-blokerler: Antihipertansif etkilerini azaltabilir.

8-Siklosporin: Özellikle yaşlı hastalarda nefrotoksisite riskinde artış olabilir.

9-Rahim içi araç (RİA): Gebeliği önleyici etkilerinin azalmasına neden olabilirler.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma 07.10.2015 tarihli, 96 sayılı ve 2015/41 protokol numaralı Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu'nun onayı alındıktan sonra Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvan Laboratuvarı'nda yapıldı. Sıçanlar Deney Hayvanları Birimi'nden temin edildi. Çalışmada yaklaşık 3-4 aylık, ağırlıkları 300-400 g arasında değişen, 21 adet Spraque Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı. Tüm denekler 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda normal oda sıcaklığında (22°C) tutuldu. Tüm denekler standart palet sıçan yemi (210 kcal/100 gr/gün) ile beslendi, musluk suyu içti. Deneyden 12 saat önce, su hariç beslenmeleri durduruldu. Araştırma yeterli hava sirkülasyonu ve çevre ısısının sağlandığı odalarda gerçekleştirildi. Deneyde kullanılacak tüm sıçanlar yapılacak işlemler öncesinde tartılarak vücut ağırlıkları kaydedildi.

3.1. Deney hazırlığı ve cerrahi teknik

Tüm sıçanlara 12 saatlik açlık sonrasında ketamine HCl 60 mg/kg (Ketalar® 50 mg/ml flakon, Pfizer İlaçları Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye) + ksilazin hidroklorür 10 mg/kg (Rompun® 23.32 mg/ml, 50 ml flakon, Bayer Türk Kimya San. Tic. Ltd. Şti, İstanbul, Türkiye) intraperitoneal yolla uygulanarak anestezi uygulandı. Gereklilik durumunda deney süresince bir defa ketamine HCl ek doz uygulanması planlandı. Sıçanlar spontan olarak solunumlarına devam ettirildi.

Sıçanların ciltleri aseptik olarak hazırlandıktan sonra sağ arka bacakta cilt ve cilt altı doku geçilecek femoral arter ve femoral ven bulunup serbestleştirildi. femoral arter ve femoral ven atravmatik cerrahi damar askısı (lastik teyp) ile turnike uygulanarak iskemi oluşturuldu. sıvı kaybını engellemek için cilt kesisi 2 adet cerrahi ipek sütür ile sütüre edildi ve ıslak gazlı bez konuldu. 120 dakika iskemi sonrası cilt sütürleri ve cerrahi damar askıları açıldı. 60 dakika revaskülarizasyon uygulandı. Sağ arka bacak renginin soluklaşması, iskemik renk değişikliği olması ve distal nabızların alınmaması iskemi; distal nabızların varlığı ve sağ arka bacak renginin normale dönmesi revaskülarizasyon kabul edildi. İ/R + ketoprofen grubuna iskemi süresi

60. dk ve 90. dk da intraperitoneal 25 mg/kg dan birer doz Ketoprofen (Profenid 100 mg IM enjeksiyonluk çözelti içeren ampul, Sanofi-aventis İlaçları Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye) uygulandı. Sonrasında sıçanların kan ve sağ arka bacak gastroknemius kas örnekleri alındı.



Resim 3.1: Deneyde kullanılan cerrahi alet ve malzemeler

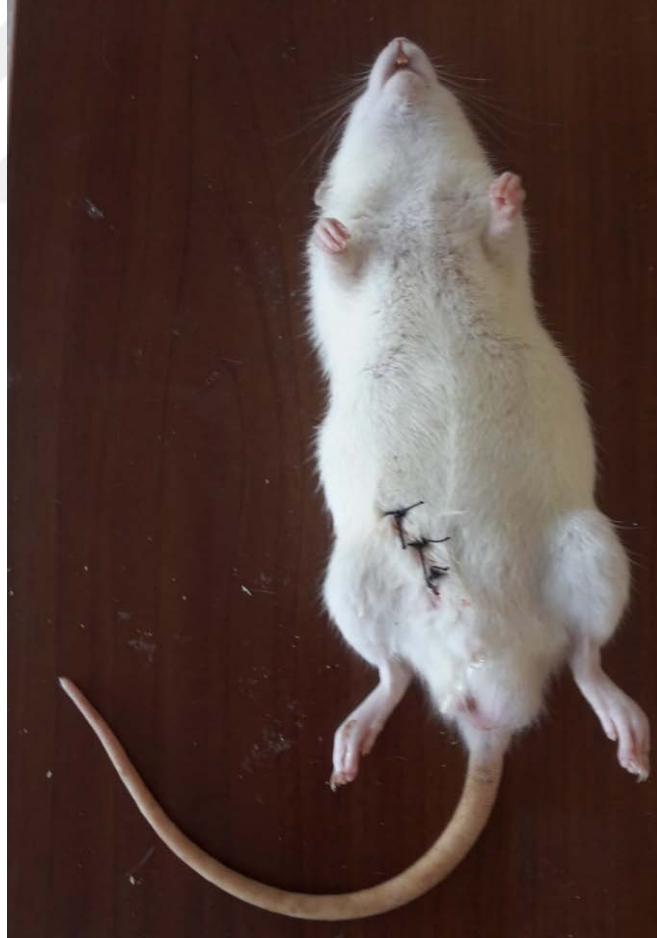


Resim 3.2: Femoral arter ve femoral ven serbestleştirilmesi

3.2. Deney grupları

Toplam 21 adet sıçan eşit sayıda 7 'şerli 3 gruba ayrıldı

Grup 1 (kontrol n=7): Tüm ratların cerrahi hazırlık ve anestezi sonrası sağ arka bacakta cilt ve cilt altı doku geçilecek femoral arter ve femoral ven bulunup serbestleştirildi. Herhangi bir turnike uygulanmadı, cilt ve cilt altı ipek sütür ile yaklaştırıldı. Üstüne ıslak gazlı bez kondu. İ/R süresi olan toplam 180 dakika beklendi sonrasında. Tüm ratlar sakrifiye edilerek kan ve iskelet kası (gastroknemius kası) doku örnekleri histopatolojik inceleme, kan ve dokuda MDA ve SOD kapasite değerlendirilmesi için alındı.



Resim 3.3: Kontrol grubu femoral arter ve femoral vene herhangi bir işlem uygulanmadı cilt ve cilt altı ipek sütür ile yaklaştırıldı

Grup 2 (İ/R grubu n=7): Tüm ratların cerrahi hazırlık ve anestezi sonrası sağ arka bacakta cilt ve cilt altı doku geçilerek femoral arter ve femoral ven bulup serbestleştirildi sonra femoral arter ve femoral vene atravmatik cerrahi askı ile turnike uygulandı. Cilt ve cilt altı ipek sütür ile yaklaştırıldı. Üstüne ıslak gazlı bez kondu. 120 dk iskemi sonrası arter ve ven serbestleştirilerek turnike kaldırıldı sonra 60 dk boyunca reperfüzyon uygulandı. İşlem sonrası Tüm ratlar sakrifiye edilerek kan ve iskelet kası (gastroknemius kası) doku örnekleri histopatolojik inceleme, kan ve dokuda MDA ve SOD kapasite değerlendirilmesi için alındı.



Resim 3.4: İskemi sonrası sıçan alt ekstremitesi (İskemik renk değişikliği)

Grup 3 (İ/R + Ketoprofen grubu n=7): Tüm ratların cerrahi hazırlık ve anestezi sonrası sağ arka bacakta cilt ve cilt altı doku geçilecek femoral arter ve femoral ven bulup serbestleştirildi. Sonra femoral arter ve femoral vene atravmatik cerrahi askı ile turnike uygulandı. Cilt ve cilt altı ipek sütür ile yaklaştırıldı. Üstüne ıslak gazlı bez kondu. 120 dk iskemi sonrası arter ve ven serbestleştirilerek turnike

kaldırıldı. Daha Sonra 60 dk boyunca reperfüzyon uygulandı. İskemi peryodunun 60.dk ve 90.dk' sında intraperitoneal 25 mg/kg dan birer doz Ketoprofen uygulandı. İşlem sonrası Tüm ratlar sakrifiye edilerek kan ve iskelet kası (gastroknemius kası) doku örnekleri histopatolojik inceleme, kan ve dokuda MDA ve SOD kapasite değerlendirilmesi için alındı.



Resim 3.5: İ/R sonrası ilaç uygulanan sıçan alt ekstremitesi
(iskemik renk değişikliğinde gerileme)

3.3. Biyokimyasal işlemler

Doku homojenizasyonu; Kas dokusu kademeli olarak çözdürüldükten sonra ağırlıkları tartıldı. 100 mg doku örneği 900 mL fosfat tampon çözeltisi (0,02 mM, pH 7.0-7.2) içerisinde 1:9 (w/v) oranında karıştırıldı. Örnekler buz dolu bir kap içerisinde homojenizatör ile 16000 devir/dakika hızda homojenize edildi. Daha sonra 1500 xg' de 4°C' de 15 dakika santrifüj edildi ve süpernatanı SOD ve MDA çalışmak için kullanıldı.

Doku proteini; Kas dokusu proteini Pierce BCA (bikinkoninik asit) protein analiz kiti (ThermoScientific, Rockford, IL, ABD) ile ölçüldü. Sonuçlar 2000 µg/mL, 1500µg/mL, 1000 µg/mL, 750 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL ve 25 µg/mL albümin standardı kullanılarak lineer kalibrasyon eğrisi ile hesaplandı.

3.3.1. SOD ölçümü

Serum ve kas dokusu SOD düzeyi Cayman SOD kiti (Katalog no: 706002; Cayman, AnnArbor, MI, ABD) kullanılarak ölçüldü. Üretici firma tarafından testin tekrarlanabilirliği çalışma içi < % 3.2, çalışma arası < % 3.7, ölçüm aralığı 0.005-0.050 U/mL olarak bildirilmiştir.

Test sonuçları 0.050 U/mL, 0.040 U/mL, 0.030 U/mL, 0.020 U/mL, 0.010 U/mL ve 0.005 U/mL standartlar kullanılarak oluşturulan lineer kalibrasyon eğrisi ile hesaplandı. Ölçümler 450 nm' de yapıldı. Sonuçlar serum için U/mL ve iskelet kas dokusu için U/g protein olarak verildi.

3.3.2. MDA ölçümü

Lipid peroksidasyon ürünlerinden olan MDA, çift ısıtmalı tiyobarbitürik asit reaktivitesi metodu kullanarak ölçüldü. Deneyin prensibi yağ asidi

peroksidasyonunun son ürünü olan MDA' nın tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek 532 nm' de maksimum absorbans veren renkli bir kompleks oluşturmaktadır. Tetraetoksipropan (TEP) ve H₂SO₄ ile hazırlanan 20 nmol/ml, 10 nmol/ml ve 5 nmol/mL standartlar kullanıldı. Sonuçlar serum için nmol/ml ve iskelet kas dokusu için nmol/g protein olarak verildi (104).

3.4. İskelet kası dokularının histopatolojik incelenmesi

Deney süresi sonunda gruptaki deneklerden iskelet kası (gastroknemius) dokuları alınarak % 10' luk nötral formalinde tespit edildi. Rutin takip işlemlerinden geçirilen dokulardan parafin bloklar hazırlandı. Mikrotom ile 4-5 µm kalınlığında alınan kesitler hematoksilin eozin (HE) ile boyandı. Histopatolojik inceleme ışık mikroskobu ile yapıldı.

3.4.1. Histopatolojik skrlama

Gastroknemius kas Doku örnekleri; kas liflerinin düzensizliği, hemoraji ve inflamatuvar hücre artışı yönünden değerlendirildi ve histopatolojik olarak skorlandı.

Skorlama;

0: normal

1: hafif

2: orta

3: ağır

Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi (84, 105).

3.5. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizin değerdendirilmesinde bilgisayar programı olarak IBM SPSS statistics versiyon 22 for Windows 10.0 kullanıldı. Sayısal değışkenler “ortalama değerd $\pm$ standart sapma” şeklinde sunuldu. Sonuşların % 95’ lik gűven aralığında ve P değerdinin 0.05’ den kűçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Biyokimyasal ve histopatolojik bulguların istatistiksel olarak gruplar arasındaki anlamlı farklarını belirlemede tek yűnlű ANOVA testi, Gruplar arası farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemede scheffe çoklu karşılaştırma testi kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmada 3 grup ve her grupta 7 adet olmak üzere toplam 21 adet sıçan kullanıldı. Kontrol grubu “Grup 1”, iskemi/reperfüzyon grubu “Grup 2” ve iskemi/reperfüzyon+ketoperofen uygulanan grup “Grup 3” olarak adlandırıldı.

4.1. Biyokimyasal bulgular

Grup 1	Serum SOD (u/ml)	Serum MDA (nmol/ml)
A1	0,086	13,361
A2	0,076	10,100
A3	0,091	12,275
A4	0,063	22,860
A5	0,068	4,636
A6	0,113	3,943
A7	0,089	4,730

Tablo 4.1: Kontrol grubu serum SOD ve serum MDA değerleri

Grup 2	Serum SOD (u/ml)	Serum MDA (nmol/ml)
B1	0,094	9,291
B2	0,082	12,142
B3	0,085	12,886
B4	0,106	9,786
B5	0,0108	19,95
B6	0,124	16,719
B7	0,113	13,620

Tablo 4.2: İ/R grubu serum SOD ve serum MDA değerleri

Grup 3	Serum SOD (u/ml)	Serum MDA (nmol/ml)
C1	0,094	7,011
C2	0,083	4,318
C3	0,005	0,670
C4	0,020	1,915
C5	0,044	6,370
C6	0,067	10,251
C7	0,056	9,466

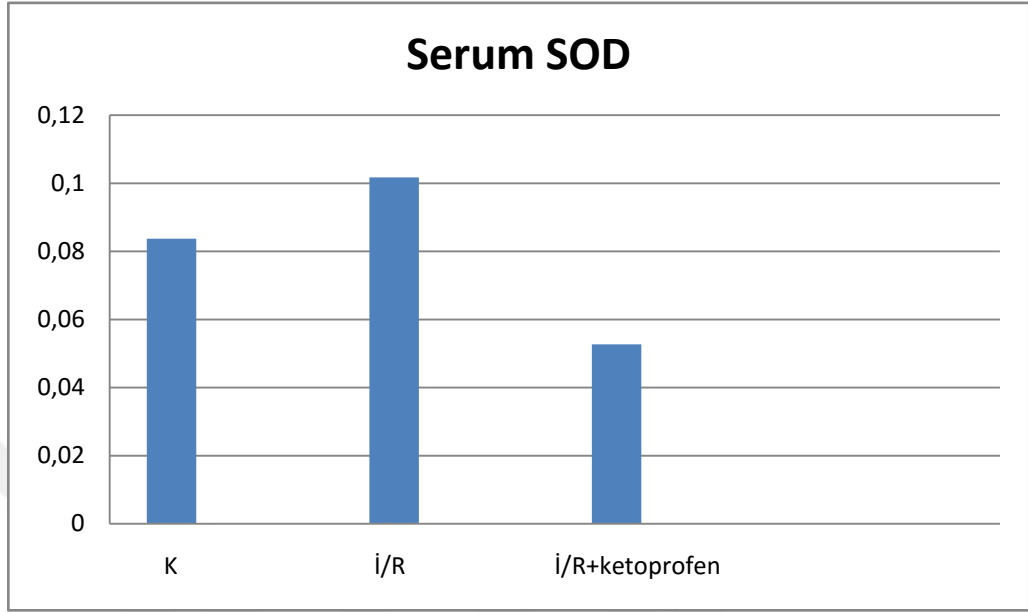
Tablo 4.3. İ/R + Ketoprofen grubu serum SOD ve serum MDA değerleri

Gruplar	Serum SOD (u/ml) p=0,003	Serum MDA (nmol/ml) p=0,327
Kontrol	0,08 ± 0,016	13,77 ± 1,23
İ/R	0,10 ± 0,015	17,35 ± 3,86
İ/R + ketoprofen	0,05 ± 0,032	14,97 ± 6,49

Tablo 4.4: Serum SOD ve serum MDA ortalama değerler

± standart sapmalar

Tek yönlü ANOVA testine göre 3 grup arasında serum SOD değerleri istatistiksel olarak anlamlı çıkmış (p=0,003), serum MDA değerleri istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır. (p=0,327)



Grafik 4.1: Serum SOD ortalama değerleri

Scheffe çoklu karşılaştırma testine göre:

Gruplar	Serum SOD (u/ml) ortalama değer	Standart sapma	p
Kontrol	0,08	$\pm 0,016$	0,357
İ/R	0,10	$\pm 0,015$	

Tablo 4.5: Kontrol ve İ/R grubu istatistiksel karşılaştırma

Kontrol ve İ/R grubu arasında serum SOD değerleri İ/R grubunda yüksek bulundu istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Gruplar	Serum SOD (u/ml) ortalama değer	Standar sapma	p
Kontrol	0,08	$\pm 0,016$	0,063
İ/R + ketoprofen	0,05	$\pm 0,032$	

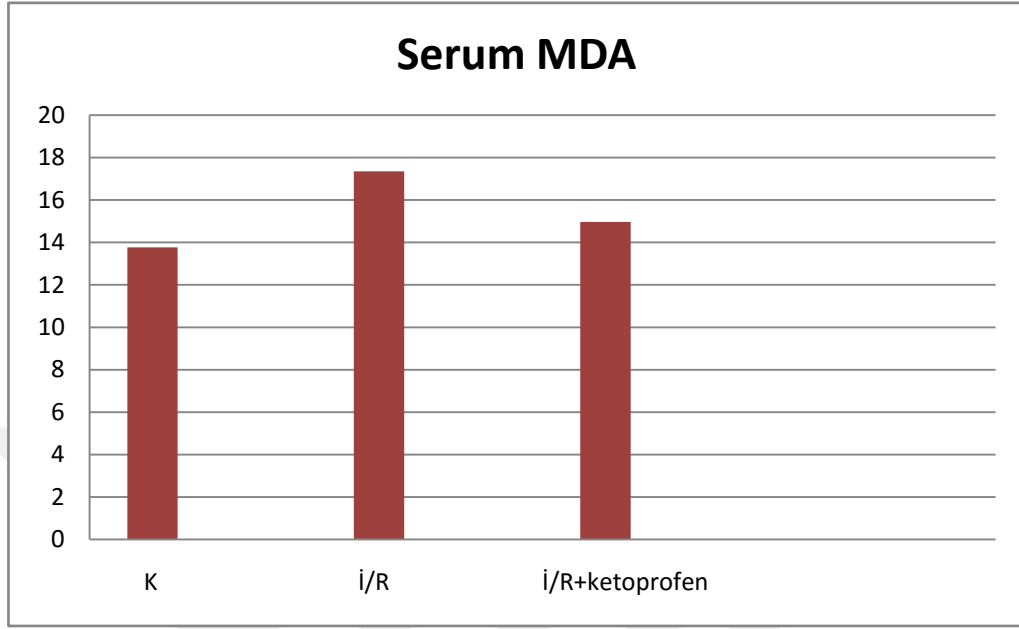
Tablo 4.6: Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma

Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu arasında serum SOD değerleri İ/R + ketoprofen grubunda düşük bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Gruplar	Serum SOD (u/ml) ortalama değer	Standart sapma	p
İ/R	0,10	$\pm 0,015$	0,003
İ/R + ketoprofen	0,05	$\pm 0,032$	

Tablo 4.7: İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma

İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu arasında serum SOD değerleri İ/R + ketoprofen grubunda düşük bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu.



Grafik 4.2: Serum MDA ortalama değerleri

Gruplar	Serum MDA (nmol/ml) ortalama değer	Standart sapma	p
Kontrol	13,77	± 1,23	0,340
İ/R	17,35	± 3,86	

Tablo 4.8: Kontrol ve İ/R grubu istatistiksel karşılaştırma

Kontrol ve İ/R grubu karşılaştırıldığında serum MDA değerleri İ/R grubunda yüksek bulundu.,istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Gruplar	Serum MDA (nmol/ml) ortalama değer	Standart sapma	p
Kontrol	13,77	$\pm 1,23$	0,868
İ/R + ketoprofen	14,97	$\pm 6,49$	

Tablo 4.9: Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma

Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu karşılaştırıldığında serum MDA değerleri İ/R + ketoprofen grubunda yüksek bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Gruplar	Serum MDA (nmol/ml) ortalama değer	Standart sapma	p
İ/R	17,35	$\pm 3,86$	0,582
İ/R + ketoprofen	14,97	$\pm 6,49$	

Tablo 4.10: İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma

İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu karşılaştırıldığında serum MDA değerleri İ/R + ketoprofen verilen grupta düşük bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup 1	Doku SOD (u/g protein)	Doku MDA (nmol/g protein)
A1	13,36	2311,97
A2	10,10	2265,61
A3	12,27	869,63
A4	22,86	3381,57
A5	4,63	301,0
A6	3,94	176,82
A7	4,73	241,98

Tablo 4.11: Kontrol grubu doku SOD ve doku MDA değerleri

Grup 2	Doku SOD (u/g protein)	Doku MDA (nmol/ g protein)
B1	9,291	1584,20
B2	12,142	6281,3
B3	12,886	1090,07
B4	9,786	3669,98
B5	19,795	1876,66
B6	16,719	2850,85
B7	13,620	2871,28

Tablo 4.12: İ/R grubu doku SOD ve doku MDA değerleri

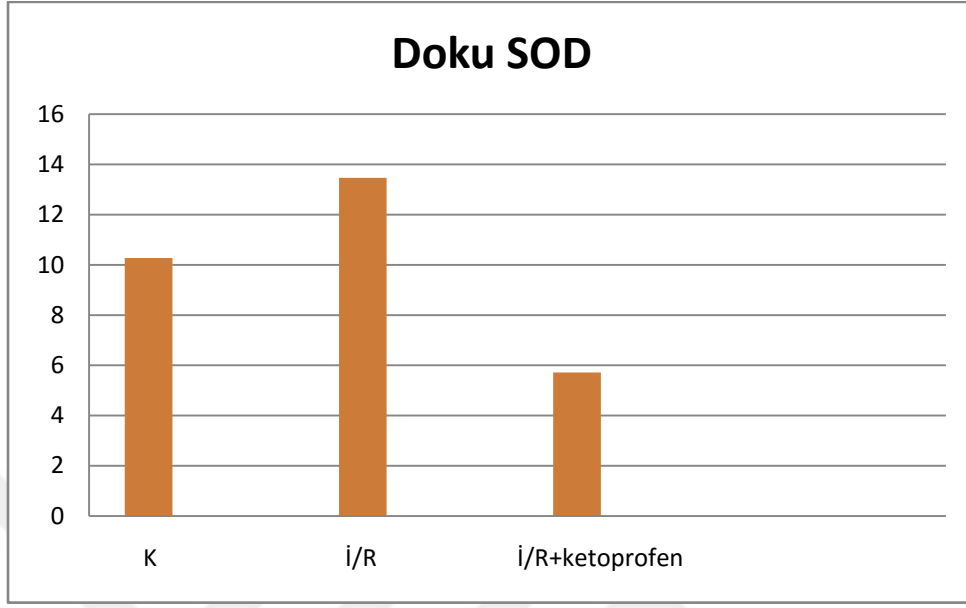
Grup 3	Doku SOD (u/ g protein)	Doku MDA (nmol/ g protein)
C1	7,01	773,72
C2	4,31	390,36
C3	0,67	1046,49
C4	1,91	1256,76
C5	6,37	1264,86
C6	10,25	2168,11
C7	9,46	1164,47

Tablo 4.13: İ/R + ketoprofen grubu doku SOD ve doku MDA değerleri

Gruplar	Doku SOD (u/ g protein) P=0,028	Doku MDA (nmol/ g protein) p=0,058
Kontrol	10,27 ± 6,76	1364,08 ± 1279,63
İ/R	13,46 ± 3,73	2889,19 ± 1736,03
İ/R + ketoprofen	5,71 ± 3,61	1152,11 ± 546,30

Tablo 4.14: Doku SOD ve doku MDA ortalama değer
± standart sapmalar

Tek yönlü ANOVA testine göre 3 grup arasında doku SOD değerleri istatistiksel olarak anlamlı çıkmış ($p=0,028$) , doku MDA değerleri istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır.($p=0,058$)



Grafik 4.3: Doku SOD ortalama değerler

Scheffe çoklu karşılaştırma testine göre:

Gruplar	Doku SOD (u/ g protein) Ortalama değer	Standart sapma	p
Kontrol	10,27	± 6,76	0,494
İ/R	13,46	± 3,73	

Tablo 4.15: Kontrol ve İ/R grubu istatistiksel karşılaştırma

Kontrol ve İ/R grubu karşılaştırıldığında doku SOD değerleri İ/R grubunda yüksek bulundu istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Gruplar	Doku SOD (u/ g protein) Ortalama değer	Standart sapma	p
Kontrol	10,27	$\pm 6,76$	0,25
İ/R + ketoprofen	5,71	$\pm 3,61$	

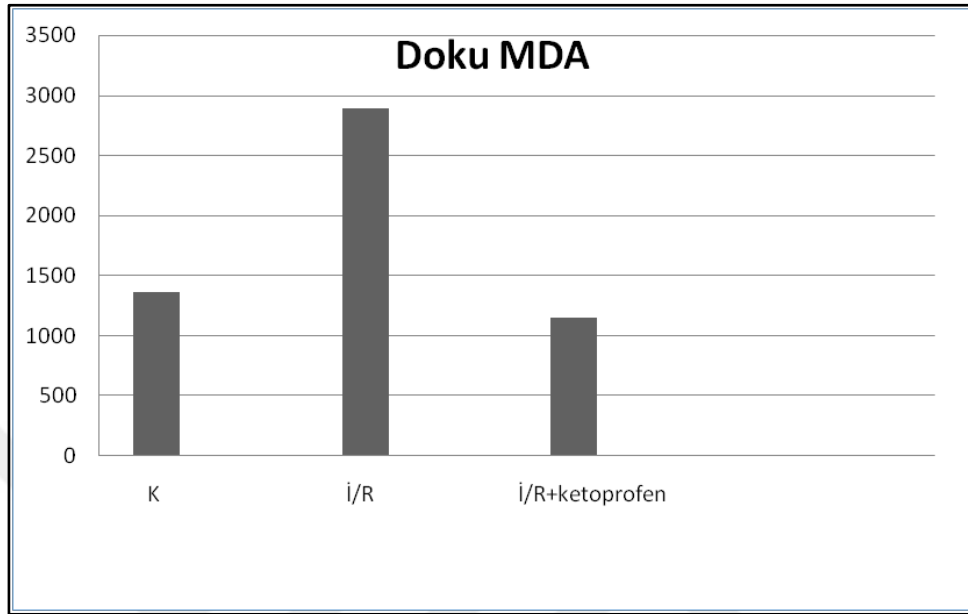
Tablo 4.16: Kontrol ve İ/R +ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma

Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu karşılaştırıldığında doku SOD değerleri İ/R + ketoprofen grubunda düşük bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Gruplar	Doku SOD (u/ g protein) Ortalama değer	Standart sapma	p
İ/R	13,46	$\pm 3,73$	0,029
İ/R + ketoprofen	5,71	$\pm 3,61$	

Tablo 4.17: İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma

İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu karşılaştırıldığında doku SOD değerleri İ/R + ketoprofen grubunda düşük bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu.



Grafik 4.4: Doku MDA ortalama değerler

Gruplar	Doku MDA (nmol/ g protein) ortalama değer	Standart sapma	p
Kontrol	1364,08	± 1279,63	0,113
İ/R	2889,19	± 1736,03	

Tablo 4.18: Kontrol ve İ/R grubu istatistiksel karşılaştırma

Kontrol ve İ/R grubu karşılaştırıldığında doku MDA değerleri İ/R grubunda yüksek bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı değildi

Gruplar	Doku MDA (nmol/ g protein) ortalama değer	Standart sapma	p
Kontrol	1364,08	$\pm 1279,63$	0,954
İ/R + ketoprofen	1152,11	$\pm 546,30$	

Tablo 4.19: Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma

Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu karşılaştırıldığında serum MDA değerleri İ/R + ketoprofen grubunda hafif düşük bulundu istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Gruplar	Doku MDA (nmol/ g protein) ortalama değer	Standart sapma	p
İ/R	2889,19	$\pm 1736,03$	0,052
İ/R + ketoprofen	1152,11	$\pm 546,30$	

Tablo 4.20: İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma

İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu karşılaştırıldığında serum MDA değerleri İ/R grubunda yüksek bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı değildi.

4.2. Histopatolojik bulgular

Grup 1	Kas lifi düzensizliği	Hemoraji	İnflamatuvar hücre artışı
A1	0	0	0
A2	0	0	0
A3	0	0	0
A4	0	0	0
A5	0	0	0
A6	0	0	0
A7	0	0	1

Tablo 4.21: Kontrol grubu histopatolojik inceleme
(0: normal 1: hafif 2: orta 3: ağır)

Grup 2	Kas lifi düzensizliği	Hemoraji	İnflamatuvar hücre artışı
B1	1	3	1
B2	1	1	0
B3	1	2	2
B4	0	1	1
B5	1	2	1
B6	2	3	1
B7	0	2	2

Tablo 4.22: İ/R grubu histopatolojik inceleme
(0: normal 1: hafif 2: orta 3: ağır)

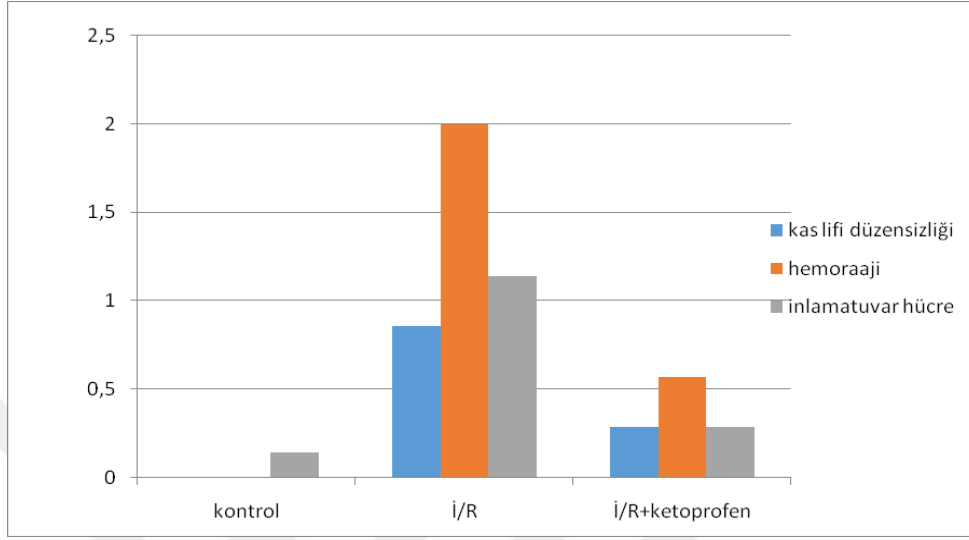
Grup 3	Kas lifi düzensizliği	Hemoraji	İnflamatuvar hücre artışı
C1	1	2	1
C2	0	0	0
C3	0	0	1
C4	1	1	0
C5	0	0	0
C6	0	0	0
C7	0	1	0

Tablo 4.23: İ/R + ketoprofen grubu histopatolojik inceleme
(0: normal 1: hafif 2: orta 3: ağır)

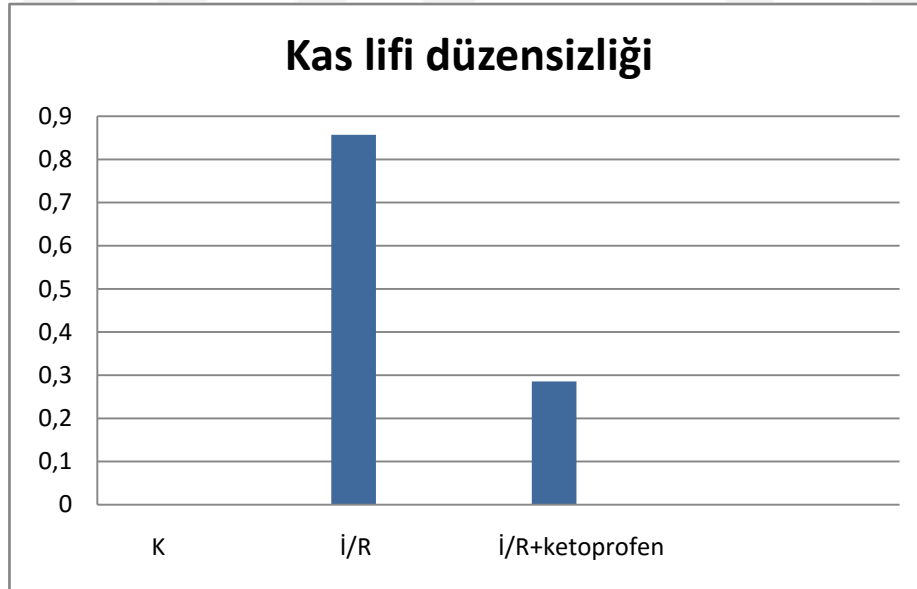
Gruplar	Kas lifi düzensizliği (P=0,013)	Hemoraji (P=0)	İnflamatuvar hücre artışı (P=0,005)
Kontrol	0 ± 0	0 ± 0	0,14 ± 0,37
İ/R	0,85 ± 0,69	2 ± 0,81	1,14 ± 0,69
İ/R + ketoprofen	0,28 ± 0,48	0,57 ± 0,78	0,28 ± 0,48

Tablo 4.24: Histopatolojik inceleme istatistiksel ortalama
± standart sapma değerleri

Tek yönlü ANOVA testine göre 3 grup arasında kas lifi düzensizliği açısından değerler istatistiksel olarak anlamlı çıkmış ($p=0,013$), hemoraji açısından değerler istatistiksel olarak anlamlı çıkmış ($p=0$) ve inflamatuvar hücre artışı açısından değerler istatistiksel olarak anlamlı çıkmıştır. ($p=0,005$)



Grafik 4.5: Gastrocnemius kası histopatolojik inceleme ortalama değerleri



Grafik 4.6 : Kas lifi düzensizliği ortalama değerleri

Scheffe çoklu karşılaştırmalı testine göre:

Gruplar	Kas lifi düzensizliği	Standart sapma	p
Kontrol	0	± 0	0,015
İ/R	0,85	$\pm 0,69$	

Tablo 4.25: Kontrol ve İ/R grubu istatistiksel karşılaştırma

Kontrol ve İ/R grubu karşılaştırıldığında kas lifi düzensizliği değerleri İ/R grubunda yüksek bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Gruplar	Kas lifi düzensizliği	Standart sapma	p
Kontrol	0	± 0	0,559
İ/R + ketoprofen	0,28	$\pm 0,48$	

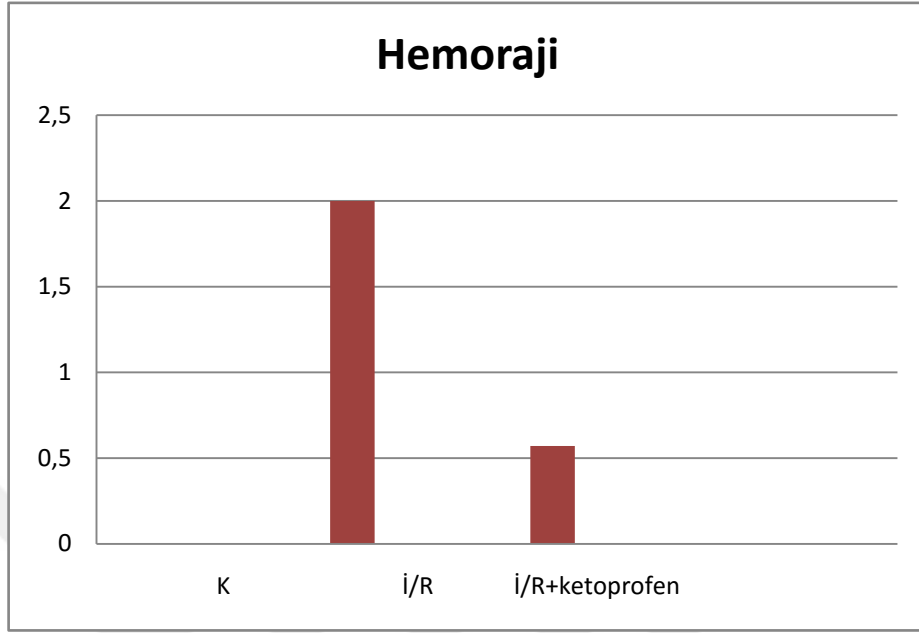
Tablo 4.26: Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma

Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu karşılaştırıldığında kas lifi düzensizliği değerleri İ/R + ketoprofen grubunda yüksek bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Gruplar	Kas lifi düzensizliği	Standart sapma	p
İ/R	0,85	$\pm 0,69$	0,119
İ/R + ketoprofen	0,28	$\pm 0,48$	

Tablo 4.27: İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma

İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu karşılaştırıldığında kas lifi düzensizliği değerleri İ/R + ketoprofen grubunda düşük bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı değildi



Grafik 4.7: Hemoraji ortalama değerleri

Gruplar	Hemoraji ortalama değer	Standart sapma	p
Kontrol	0	± 0	0
İ/R	2	$\pm 0,81$	

Tablo 4.28: Kontrol ve İ/R grubu istatistiksel karşılaştırma

Kontrol ve İ/R grubu karşılaştırıldığında hemoraji değerleri İ/R grubunda yüksek bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Gruplar	Hemoraji ortalama değer	Standart sapma	p
Kontrol	0	± 0	0,288
İ/R + ketoprofen	0,57	$\pm 0,78$	

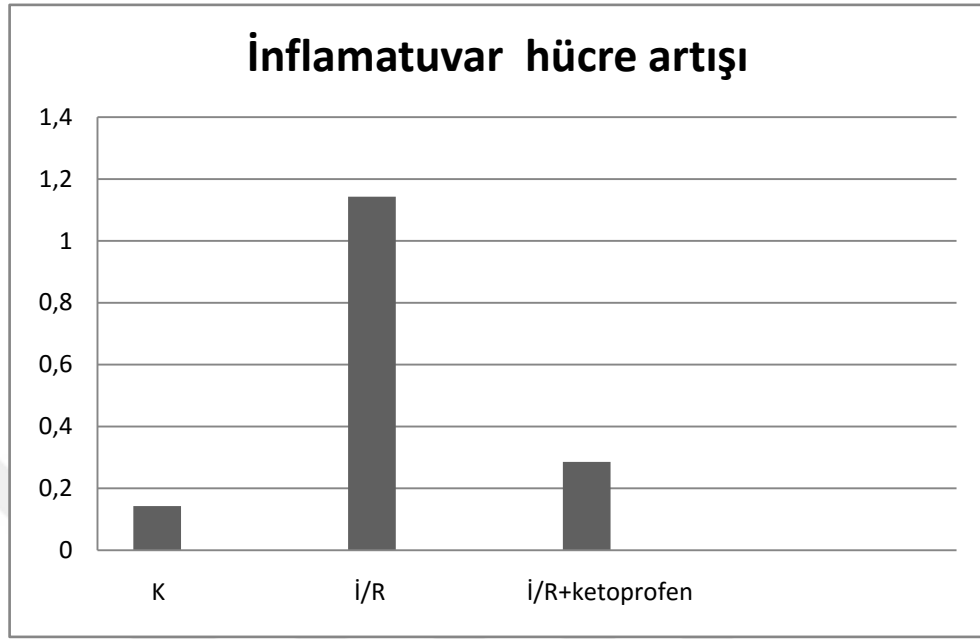
Tablo 4.29: Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma

Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu karşılaştırıldığında hemoraji değerleri İ/R + ketoprofen grubunda yüksek bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Gruplar	Hemoraji ortalama değer	Standart sapma	p
İ/R	2	$\pm 0,81$	0,03
İ/R + ketoprofen	0,57	$\pm 0,78$	

Tablo 4.30: İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma

İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu karşılaştırıldığında hemoraji değerleri İ/R + ketoprofen grubunda düşük bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu.



Grafik 4.8: İnflamatuvar hücre artışı ortalama değerleri

Gruplar	İnflamatuvar hücre artışı ortalama değer	Standart sapma	p
Kontrol	0,14	±0,37	0,009
İ/R	1,14	±0,69	

Tablo 4.31: Kontrol ve İ/R grubu istatistiksel karşılaştırma

Kontrol ve İ/R grubu karşılaştırıldığında inflamatuvar hücre artışı İ/R grubunda yüksek bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Gruplar	İnflamatuvar hücre artışı ortalama değer	Standart sapma	p
Kontrol	0,14	$\pm 0,37$	0,883
İ/R + ketoprofen	0,28	$\pm 0,48$	

Tablo 4.32: Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma

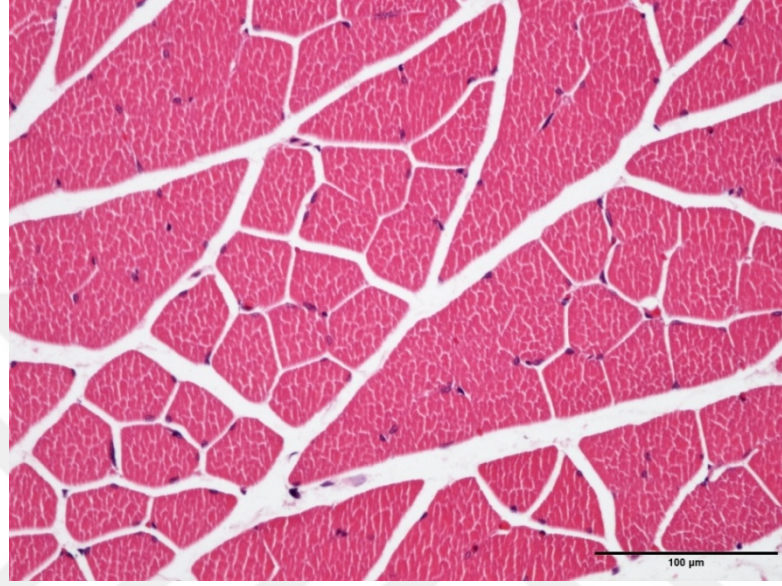
Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu karşılaştırıldığında inflamatuvar hücre artışı İ/R + ketoprofen grubunda yüksek bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Gruplar	İnflamatuvar hücre artışı ortalama değer	Standart sapma	p
İ/R	1,14	$\pm 0,69$	0,026
İ/R + ketoprofen	0,28	$\pm 0,48$	

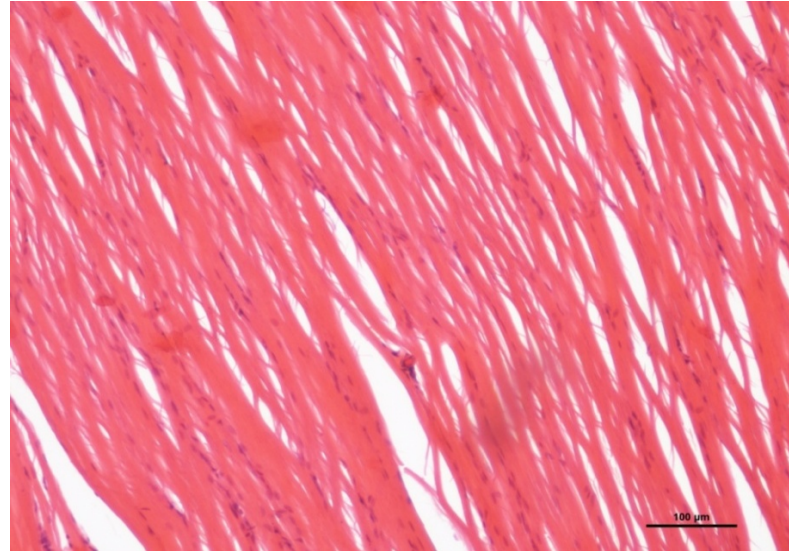
Tablo 4.33: İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma

İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu karşılaştırıldığında inflamatuvar hücre artışı İ/R + ketoprofen grubunda düşük bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

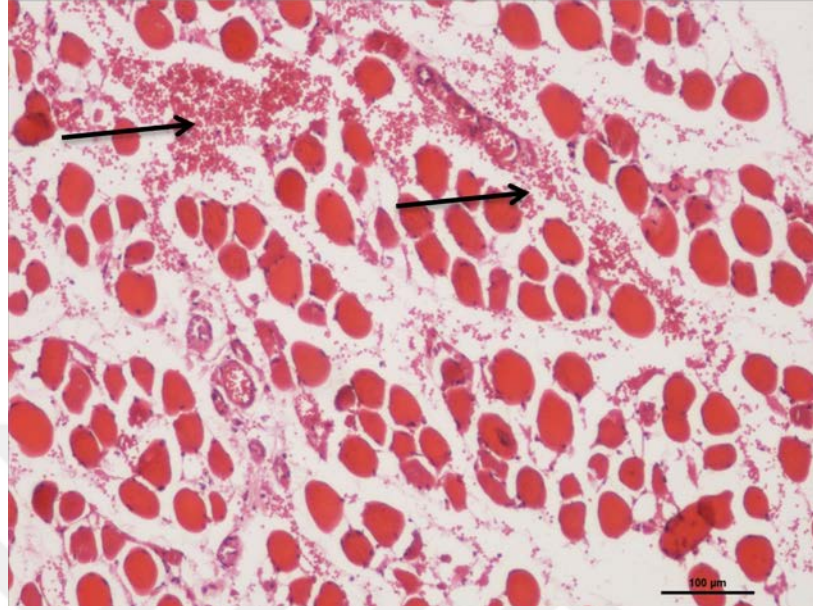
4.3. İskelet kas dokusuna ait histopatolojik kesitler



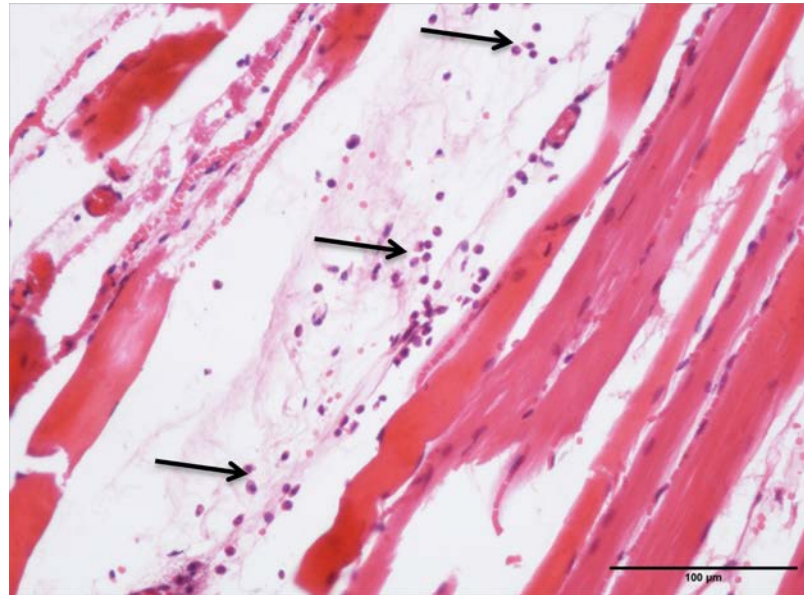
Resim 4.1: Kontrol grubuna ait iskelet kas dokusunun enine kesitlerinde hücre çekirdeklerinin periferde yer aldığı, hemoraji, inflamasyonun olmadığı görülmektedir.



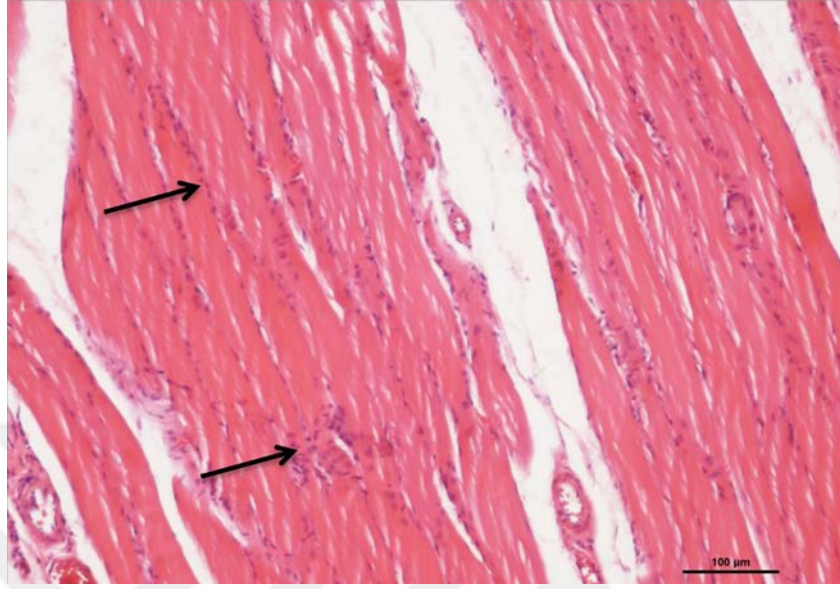
Resim 4.2: Kontrol grubuna ait kas dokusunun boyuna geçen kesitinde kas liflerinin düzgün sıralandığı görülmektedir.



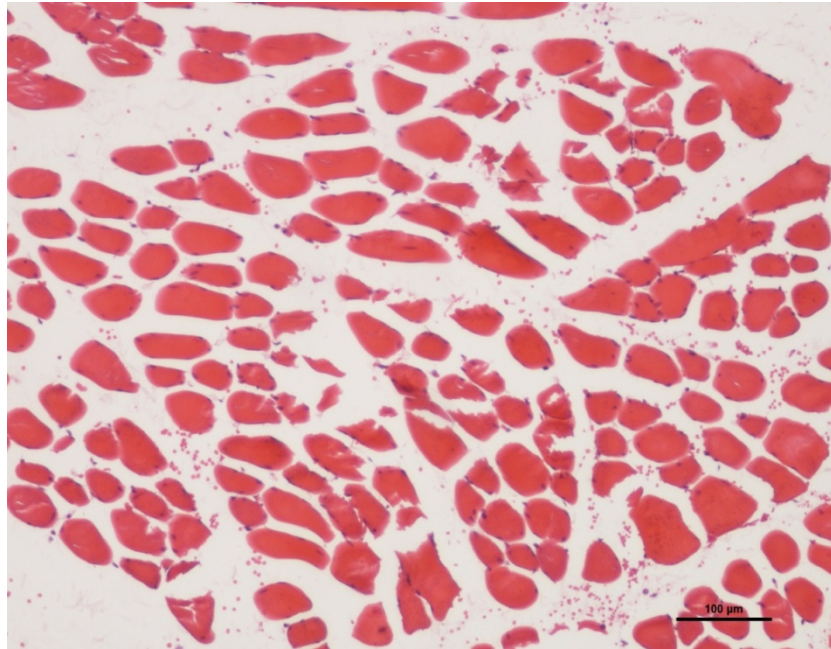
Resim 4.3: İskemik grupta kas liflerinin birbirinden ayrıldığı, hemorajinin (oklar) çok belirgin olduğu görülmektedir.



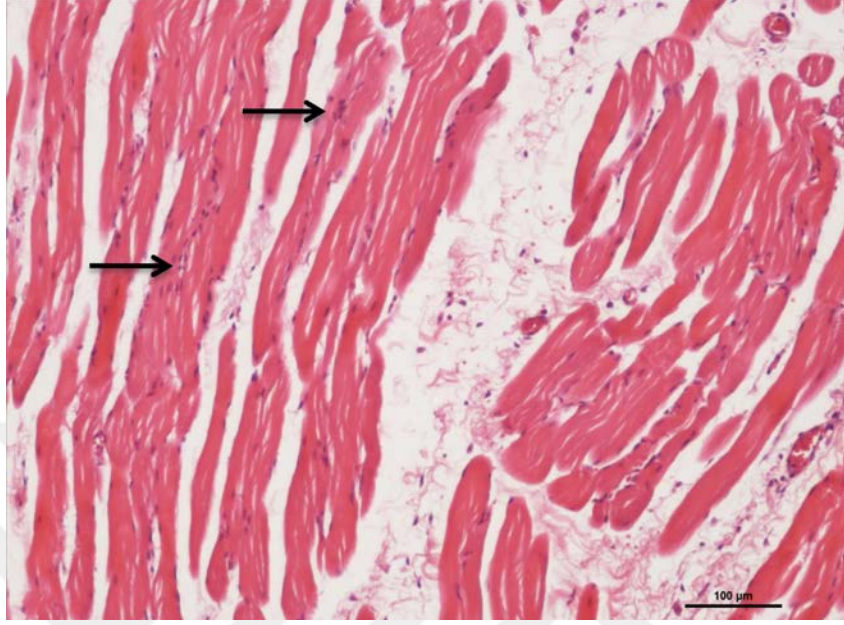
Resim 4.4: İskemi grubunda düzensiz kas lifleri arasında artmış inflamatuvar hücreler (oklar) görülmektedir.



Resim 4.5: İskemi grubuna ait kas liflerinde çekirdek artışının (oklar) çok fazla olduğu görülmektedir.



Resim 4.6: Ketoprofen verilen grupta kas liflerinin arasındaki hemorajinin azaldığı görülmektedir.



Resim 4.7: Ketoprofen verilen grupta kas liflerinde çekirdek sayısının (oklar) devam ettiği ancak iskemik gruba göre daha az olduğu görülmektedir.

5. TARTIŞMA

Hücre organizmanın temel yapı taşıdır. Fonksiyonel ve yapısal olarak benzer hücreler gruplar oluşturarak dokuları ve bunlarda birleşerek organları oluşturur. Hücreler patolojik strese maruz kalırsa (bakteri toksinleri, radyasyon, iskemik vb) hasar görür. Hasarın geri dönüşümlü veya geri dönüşsüz olması; hücrenin maruz kaldığı stresin boyutlarına, kanlanması, metabolizmasına ve yapısına bağlıdır. Bir dokuya yeterli kan gitmemesine iskemik denir. İskemik en sık sebebi hipoksi yani yetersiz oksijenizasyondur. İskemide en önemli olay aerobik/anaerobik mekanizmanın bozulması ve anaerobik mekanizmanın baskın hale gelmesidir (2, 21). Aritmiler, ileri yaş, kalp yetmezliği, immobilizasyon alt ekstremite iskemisi için risk faktörleridir (106). Alt ekstremite iskemisi olgularına acil yaklaşım, erken tanı ve tedavi hastalığın prognozunu direkt olarak etkilemektedir(51). 1881 yılında Volkman'ın açıkladığı komplikasyona bağlı oluşan kas iskemisi muhtemelen ilk iskemik tanımıdır (87). İskemik dokuya vereceği zarar iskemik dokunun türüne göre değişir. İskelet kasında 4. Saatte irreversible hasar başlarken kemik dokusunda günler sürebilir (87). Akut alt ekstremite iskemisi yüksek mortalite ve morbidite sebebidir Ancak iskemik dokunun yeniden kanlanması yani reperfüzyonu iskemik hasardan daha büyük hasara yol açtığı gösterilmiştir (24). Hatta Parks ve ark. (107) İntestinal mukozaya üzerine yaptıkları bir çalışmada İ/R hasarının saf iskemik hasardan daha büyük olduğunu göstermişlerdir. İ/R hasarını ilk 1960' da Haimovici "myonefropatik metabolik sendrom" olarak tariflemiştir (86). İ/R hasarının temelini; iskemik dokularda anaerobik metabolizma sonucu açığa çıkan zararlı maddelerin revaskülarizasyonla sistemik dolaşıma geçmesi ve akciğer, böbrek, karaciğer gibi organlarda hasara yol açması oluşturur (1, 87, 108). Özellikle akut alt ekstremite iskemisine geç kalınmış cerrahi müdahale, bu komplikasyonlara sebep olarak mortalite ve morbiditeye neden olur. Yapılan kapsamlı çalışmalarda alt ekstremite İ/R hasarının % 30-50 amputasyona , % 30-80 arasında da mortaliteye sebep olduğu gösterilmiştir. Başarılı cerrahi sonrası bile ancak % 70-80 olguda tam

düzelme sağlanır (109, 110). Yassin ve ark. (111) iki taraflı alt ekstremité İ/R hasarında mortaliteyi % 70 olarak açıklamıştır. İ/R hasarında etkilenen alanın büyük olması hasarın boyutunu etkiler. İskelet kası büyük bir kütleyle sahip olması ve iskemiye dirençsiz oluşu alt ekstremité İ/R hasarının çok ciddi sonuçlara yol açmasına neden olur (87).

Uzun süreli iskemi sonrası dokunun yeniden revaskülarizasyonu serbest oksijen radikalleri oluşmasına sebep olur. Bu serbest oksijen radikalleri kendileri ve etkileşime girdikleri PMNL, endotel hücresi, kompleman sistemi gibi yapılarla lokal ve uzak organ hasarına yol açar (22, 88, 90, 108). En önemli serbest oksijen radikalleri O_2^- ve $OH^\cdot$ dir. Hücreler serbest oksijen radikallerinin hasarına adaptif değildirler (1, 77). Serbest oksijen radikalleri; DNA ve protein yapılı enzimleri tahrip eder, kalsiyum dengesini bozar ve sonucunda hücre hasarına sebep olur (30).

İskelet kasında meydana gelen İ/R hasarı antioksidan ilaçlarla düzeltilebilir. Analjezik ve anti-inflamatuvar etkileri nedeniyle NSAİİ' ler sık kullanılan ajanlardandır (19, 112). NSAİİ' lerden ilk kez 1820' de kolşisin, 1860' da salisilik asitin tanımı yapılmıştır (91). NSAİİ' ler etkilerini prostoglandin sentezini bloke ederek gösterirler. Prostoglandinler araşidonik asitten (AA) COX yoluyla sentezlenir. NSAİİ' ler; COX enzimini bloke ederek prostoglandin sentezini azaltır. NSAİİ' lerin COX enzimini bloke etme derecesi anti-inflamatuvar gücünü belirler (73, 93). Ketoprofen arylpropionic asit türevi olan bir NSAİİ 'tir. İnflamasyon ve ağrı tedavisinde sıkça kullanılır. Ketoprofen'in çeşitli hayvan çalışmalarında akut, subakut ve kronik inflamasyona güçlü etkisi gösterilmiştir. Ketoprofen'in bir diğer özelliği lipooksijenaz yolunu da inhibe etmesidir (98, 100, 103). Yıldırım ve ark. (112) sıçan testislerinde İ/R hasarı üzerine bir çalışma olan "The effect of dexketoprofen on ischemia reperfusion injury" isimli çalışmalarında Ketoprofen'i kullanmış ve olumlu sonuçlar almışlardır. Ayrıca Çakan ve ark. (113) "Sıçan testisindeki iskemi-reperfüzyon hasarı sonucu oluşan oksidatif stres ve histopatolojik değişiklikler üzerine ketoprofenin koruyucu etkisi" çalışmalarında torsiyon ve detorsiyon yapılan testiste hem de karşı testiste İ/R hasarını azalttığı sonucuna

varmışlardır. Günümüze kadar iskelet kasında İ/R hasarı üzerine bir çok çalışma yapılmış ve birçok ilacın olumlu etkileri saptanmıştır (9, 84, 114, 115). Bir NSAİİ olan Ketoprofen'in de bir çok organda gelişen İ/R hasarına etkileri araştırılmış ancak iskelet kasında İ/R hasarına olan etkileri araştırılmamıştır (112, 113).

Bizim bu çalışmamızda tek taraflı femoral arter ve femoral ven klemplenmesi sonrası gelişen iskelet kasında (gastroknemius kası) oksidatif stres ve iskelet kası histopatolojisindeki değişimler üzerine bir NSAİİ olan ketoprofen'in etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Wehrens; sıçanların bacak kan dolaşımının ile insanların bacak kan dolaşımının benzer olduğu ve tam iskemiye ulaşabilmek için femoral akım ile birlikte kollateral dolaşımının da engellenmesi gerektiğini söylemiştir (116). Bundan dolayı bizde çalışmamızda tam iskemiye ulaşabilmek için hem femoral arter ve hem de femoral vene müdahale ettik. Çalışmamızda yapılmış diğer benzer çalışmalara uygun olarak biyokimyasal ve histopatolojik çeşitli parametreler kullandık. Biyokimyasal olarak serumda ve dokuda SOD ile MDA ölçümleri, histopatolojik olarak ışık mikroskopunda HE ile boyanan preperatlarda kas lifi düzensizliği, hemoraji, inflamatuvar hücre artışı değerlendirildi ve istatistiksel olarak deney grupları arasında farkları araştırdık (84, 115, 117). Çalışma gruplarına araştırılacak değişkenler için istatistiksel olarak anlamlı olabilecek minimum sayıda denek dahil edilmiştir ve literatür çalışmalarıyla uyumludur (113, 118).

Serbest oksijen radikalleri sağlıklı hücre metabolizmasında küçük miktarlarda da olsa oluşur; ancak hücre normal mekanizmasını devam ettirdiğinden dolayı hemen inaktif hale getirilir. Patolojik radyasyona maruz kalma, otoimmün hastalıklar ve İ/R hasarı gibi olaylarda normal mekanizma bozulduğu için inaktif hale getirme işlemi tam olarak işleyemez ve zararlı son ürünler dokuda birikir (22). Serbest oksijen radikali oluşumuna NADPH oksidaz enzimi, ksantin oksidaz enzimi, Haber-Weiss reaksiyonu, Fenton reaksiyonu, sitokrom p 450 sistemi aracılık eder (1, 2, 21). Serbest oksijen radikallerinin yıkıcı etkileri antioksidanlar tarafından nötralize edilir. Bunlardan biri enzim yapısında bir endojen antioksidan olan SOD 'dur (79).

SOD' u ilk 1968' de Mccord ve Fridovich tanımlamıştır. SOD antioksidan savunmada ilk basamaktır. $O_2^{\cdot-}$ nin H_2O_2 ye dismutasyonunu sağlar (119, 120). Daha sonra oluşan H_2O_2 'de glutatyon peroksidaz ile elimine edilir (81).

Çalışmamızda serum SOD değerlerinin İ/R grubunda kontrol grubuna göre yüksek (K:0,08 İ/R:0,10 $p=0,357$); İ/R + ketoprofen grubunun SOD değerinin kontrol grubuna göre düşük (K:0,08 İ/R+ketoprofen:0,05 $p=0,063$); İ/R + ketoprofen grubunun SOD değerinin İ/R grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğunu bulduk (İ/R:0,10 İ/R+ketoprofen 0,05 $p=0,003$). Özkan ve ark. (121) "Antioxidant effects of propofol on tourniquet-induced ischemia-reperfusion injury: an experimental study" isimli sıçan iskelet kası üzerindeki çalışmaları ile Halıcı ve ark. (122) "The effect of melatonin on plasma oxidant-antioxidant skeletal muscle reperfusion injury in rats" isimli çalışmalarında bizim çalışmamıza benzer şekilde serum SOD değerlerini İ/R grubunda kontrol grubu ve tedavi grubuna kıyasla yüksek bulmuş, tedavi grubunda İ/R grubuna kıyasla serum SOD değerinde anlamlı azalma olduğunu göstermişlerdir.

Çalışmamızda doku SOD değerlerine bakıldığında; İ/R grubunun değerleri kontrol grubu değerlerine göre yüksek (K:10,27 İ/R:13,46 $p=0,494$); İ/R + ketoprofen grubu doku SOD değerleri kontrol grubuna göre düşük (K:10,27 İ/R+ketoprofen:5,71 $p=0,25$); İ/R grubu ve İ/R + ketoprofen grubu doku SOD değerleri kıyaslandığında ise İ/R + ketoprofen grubunda anlamlı derecede düşük bulduk (İ/R:13,46 İ/R+Ketoprofen:5,71 $p=0,029$). Erdem ve ark. (84) "Melatoninin iskelet kası iskemi-reperfüzyon yaralanması üzerine koruyucu etkisi" çalışmalarında doku SOD' u İ/R grubunda kontrol grubuna göre yüksek, İ/R + melatonin grubunda İ/R grubuna göre anlamlı azalmış bulmuşlardır. Bu çalışma verileri bizim çalışmamızı desteklemektedir. Özkan ve ark. (121) "Antioxidant effects of propofol on tourniquet-induced ischemia-reperfusion injury: an experimental study" isimli sıçan iskelet kası üzerindeki çalışmalarında bizim çalışmamıza benzer şekilde doku SOD değerini İ/R + propofol grubunda İ/R grubuna göre anlamlı azalmış bulmuşlardır Ayrıca Özyurt ve ark. (123) "Caffeic acid phenethyl ester (CAPE)

protects rat skeletal muscle against ischemia-reperfusion-induced oxidative stres” çalışmalarıda bizim çalışmamızı desteklemektedir.

Yapılan bazı İ/R çalışmalarında reperfüzyon sonrası serum ve doku SOD seviyelerinde kullanıma bağlı azalma gösterilmiştir. Ancak hem bizim çalışmamızda hem de bizim çalışmamızı destekleyen diğer çalışmalarda İ/R grubunda hem serum hem doku SOD değerinde yükselme gözlenmiştir. Bunun sebebini araştırmacılar İ/R sonrası reaktif oksijen ürünlerinin (ROÜ) çok fazla üretilmesi ve bunların antioksidanları uyarması sonucu aşırı üretime bağlamışlardır (84, 124). Bizde bu olayın vücudun oluşturduğu bir denge mekanizması olduğu ve bir antioksidan olan SOD’ un savunma mekanizması olarak İ/R grubunda yüksek çıktığı fikrini savunuyoruz. Ayrıca İ/R + ketoprofen eklenen grupta serum ve doku SOD değerlerinin İ/R grubuna göre anlamlı azalma olmasını yapılan diğer benzer çalışmalarda olduğu gibi bizde Ketoprofen’in direkt antioksidan etkisine ve indirekt olarak antioksidan sisteme olumlu etkisine bağladık.

Serbest oksijen radikallerinin hücrede en önemli yıkıcı etkisi hücre zarı yapısındaki lipidlerle reaksiyona girmesi ve lipid peroksidasyonunu başlatmasıdır(22, 44, 77). Bu lipid peroksidasyonu hücre hasarına neden olur (30). Peroksidasyon, lipid zinciri bitene kadar ya da antioksidan sistem müdahalesiyle durdurulur (44). İ/R hasarı başta olmak üzere bir çok patoloji lipid peroksidasyonuna yol açar.Bu lipid peroksidasyonunun son ürünü MDA ‘dır. MDA stabil bir üründür. MDA tayini ile serbest oksijen radikallerinin verdiği hasar tespit edilebilir (44, 77).

Çalışmamızda serum MDA değerlerine bakıldığında İ/R grubunda değerlerin kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (K:13,77 İ/R:17,35 p=0,340) İ/R + ketoprofen grubu serum MDA değerlerine bakıldığında İ/R grubundan düşük (İ/R:17,35 İ/R+ketoprofen:14,97 p=0,582), kontrol grubundan yüksek bulunmuş (K:13,77 İ/R+ketoprofen:14,97 p=0,868) ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Saçar ve ark. (115) ”Vitamin C ve iloprostun alt ekstremitte iskemi reperfüzyonuna bağlı iskelet kas hasarında koruyucu etkisi” çalışmalarında İ/R + iloprost grubu

serum MDA değerlerinin İ/R grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığını bulmuşlardır. Baltalarlı ve ark. (124) “Ascorbic acid (vitamin c) and iloprost attenuate the lung injury caused by ischemia/reperfusion of the lower extremities of rats“ çalışmalarında İ/R + iloprost grubunda serum MDA düzeyinin İ/R grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığını göstermişlerdir. Köksel ve ark. (125) “The influence of iloprost on acute lung injury induced by hind limb ischemia-reperfusion in rats” çalışmalarında serum MDA değerlerini İ/R grubunda İ/R + iloprost grubundan yüksek ancak istatistiksel olarak anlamsız bulmuşlardır. Bizde çalışmamızda bu çalışmaya benzer sonuçlar elde ettik. Yeginsu ve ark. (117) “Ekstremité iskemisi reperfüzyonuna bağlı akciğer hasarında metilprednizolonun etkileri” çalışmalarında İ/R grubunda serum MDA seviyelerini kontrol ve tedavi gruplarına göre daha yüksek bulmuşlardır. Özellikle bu çalışmanın verileri bizim çalışmamızla çok benzerdir. Çalışmamızda İ/R grubunda serum MDA seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek ve İ/R + ketoprofen grubunda MDA seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı olmasada İ/R grubuna göre düşük olması yapılan diğer çalışmalarla uyumludur. Çalışmamızın istatistiksel olarak anlamlı çıkmaması sebebi Ketoprofen dozunun düşük gelmesi veya Ketoprofen’in olumlu etkilerinin geç başlaması olabilir.

Doku MDA değerlerine bakıldığında; İ/R grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (K:1364,08 İ/R:2889,19 p=0,113). İ/R + ketoprofen doku MDA değeri İ/R grubundan düşük (İ/R:2889,19 İ/R+ketoprofen:1152,11 p=0,052) ve İ/R + ketoprofen grubu doku MDA değerleride kontrol grubundan düşük bulunmuştur (K:1364,08 İ/R+ketoprofen:1152,11 p=0,954). Çakan ve ark. (113) “Sıçan testisindeki iskemisi-reperfüzyon hasarı sonucu oluşan oksidatif stres ve histopatolojik değişiklikler üzerine ketoprofenin koruyucu etkisi” çalışmalarında torsiyon/detorsiyon (T/D) uygulanan İ/R grubunda MDA değerinin sham ve kontrol grubuna göre yüksek, T/D + ketoprofen grubunda T/D grubuna göre değerin düşük olduğunu göstermişlerdir. Şenkaya ve ark. (9) “İskelet kası iskemisi reperfüzyon hasarının azaltılmasında tiklopidin” çalışmalarında iskelet kası MDA değerleri bulgularımıza benzer değerler çıkmış; ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Araştırmacılar bu sonucu kullanılan yöntemlere bağlı canlı

hücre kaybına bağlamışlardır. Saba ve ark. (7) “Kalsiyum dobesilatın iskelet kası iskemi–reperfüzyon hasarındaki rolü” çalışmalarında kalsiyum dobesilat verilen İ/R grubunda ilaçsız İ/R grubuna göre düşük MDA düzeylerine ulaşmışlardır.

Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında literatürdeki diğer çalışmalarla uyumlu sonuçlara ulaştık. İ/R grubu ile i/R + ketoprofen grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamasakta çok yakın değerler elde ettik. ($p=0,052$) Bunun sebebini olarak Ketoprofen dozunun düşük gelmesi olabilir. Ayrıca doku MDA değerlerinin reperfüzyon süresinin kısalığına bağlı anlamlı derecede yükselmemiş olabileceği, denek sayısının yetersiz olabileceği veya kullanılan yöntem sonucu alınan kas örneklerinde canlı hücre kaybına bağlı olabileceği düşünüldü.

Histopatolojik bulgularına bakıldığında; ışık mikroskopik değerlendirmede kontrol grubuna ait kas dokularının normal yapıda olduğu (Resim 4.1, Resim 4.2) görüldü. İ/R grubunda kas liflerinin birbirinden ayrıldığı, aralarında hemorajinin çok fazla olduğu (Resim 4.3), PMNL baskın olmak üzere inflamatuvar hücrelerin arttığı (Resim 4.4), kas liflerinde çekirdek sayılarının belirgin olarak arttığı (Resim4.5) tespit edildi. İ/R + ketoprofen grubunda hemorajinin, inflamasyonun çok azaldığı (Resim4.6), kas liflerinde artmış çekirdek sayısının devam ettiği ancak İ/R grubuna göre daha az olduğu (Resim4.7) tespit edildi. Sonuç olarak ketoprofen inflamasyonu ve hemorajiyi azalttığı söylenebilir.

Histopatolojik bulgular istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; kas lifi düzensizliğinin İ/R grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek (K:0 İ/R:0,85 $p=0,015$); İ/R+ketoprofen grubunda kontrol grubuna göre yüksek (K:0 İ/R+ketoprofen:0,28 $p=0,559$); İ/R + ketoprofen grubunda İ/R grubuna göre düşük bulundu (İ/R:0,85 İ/R+ketoprofen:0,28 $p=0,119$). Ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Hemoraji İ/R grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek (K:0 İ/R:2 $p=0$); İ/R + ketoprofen grubunda İ/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük (İ/R:2 İ/R+ketoprofen:0,57 $p=0,03$); İ/R+ketoprofen grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulundu. (K:0 İ/R+ketoprofen:0,57 $p=0,288$). İnflamatuvar hücre artışı İ/R grubunda kontrol

grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek (K:0,14 İ/R:1,14 p=0,009); İ/R + ketoprofen grubunda İ/R grubuna göre istatistiksel anlamlı düşük (İ/R:1,14 İ/R+ketoprofen:0,28 p=0,026). İ/R + ketoprofen grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulundu (K:0,14 İ/R+ketoprofen:0,28 p=0,883). Erdem ve ark. (84). “Melatoninin iskelet kası iskemi-reperfüzyon yaralanması üzerine koruyucu etkisi” çalışmalarında çalışmamızla benzer sonuçlara ulaşmışlardır. Ayrıca Erkanli ve ark. (105) “Melatonin protects against ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle” çalışmalarında histopatolojik ve istatistiksel olarak çalışmamızı desteklemektedir.

6. SONUÇ

Bu çalışmamızda tek taraflı femoral arter ve femoral ven klemplenmesi sonrası gelişen iskelet kasında (gastroknemius kası) oksidatif stres ve iskelet kası histopatolojisindeki değişimler üzerine bir NSAİİ olan Ketoprofen'in etkisi araştırılmış ve aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur.

Serum SOD ve doku SOD değerlerine bakıldığında İ/R grubu ile İ/R + ketoprofen grubu arasında anlamlı farklılık olduğu ve diğer yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu gösterilmiştir.

Serum MDA ve doku MDA değerleri kontrol, İ/R, İ/R + ketoprofen grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmasada özellikle İ/R ve İ/R + ketoprofen grupları doku MDA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlıya yakın değerler elde edilmiş, ($p=0,052$) yapılan diğer çalışmalarla çalışmamızın benzer sonuçları olduğu görülmüştür.

Çalışmamızın histopatolojik sonuçlarına bakıldığında ışık mikroskopisi bulguları ve istatistiksel açıdan anlamlı ve diğer yapılan çalışmalarla benzer olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak çalışmamızda bir NSAİİ olan Ketoprofen'in iskelet kası İ/R hasarında olumlu etkileri olduğu ve İ/R hasarında faydalı katkıları olduğu bulundu. Bu bulguların tam olarak ortaya konması ve pratikte kullanılabilmesi için daha geniş deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Kalp ET. damar hastalıklarında iskemi-reperfüzyon hasarı. Duran E (Editör) Kalp ve damar cerrahisi Birinci baskı İstanbul: Çapa Tıp Kitabevi. 2004:197-215.
2. Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. Microsurgery. 2004;24(6):468-75.
3. Montalvo-Jave EE, Escalante-Tattersfield T, Ortega-Salgado JA, Piña E, Geller DA. Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury. Journal of Surgical Research. 2008;147(1):153-9.
4. Hinder RA, Stein HJ. Oxygen-derived free radicals. Archives of Surgery. 1991;126(1):104-5.
5. Welbourn C, Goldman G, Paterson I, Valeri C, Shepro D, Hechtman H. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. British journal of surgery. 1991;78(6):651-5.
6. Weinbroum AA, Hochhauser E, Rudick V, Kluger Y, Karchevsky E, Graf E, et al. Multiple organ dysfunction after remote circulatory arrest: common pathway of radical oxygen species? Journal of Trauma and Acute Care Surgery. 1999;47(4):691.
7. Saba D, Yavuz H, Şenkaya I, Ağrıç M, Özer Z, Özkan H, Et Al. The Effects Of Calcium Dobesilate On Skeletal Muscle Ischemia. Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi. 2000;8(4):797-801.
8. Haimovici H. Muscular, renal, and metabolic complications of acute arterial occlusions: myoneuropathic-metabolic syndrome. Surgery. 1979;85(4):461-8.
9. Işık Ş, Bilge Ö, Davit S, Hakan G, Ziya Ö, Melahat D, et al. Ticlopidin On Redicing Ischemia Reperfusion Injury In Scaletal Muscle. Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi. 1999;7(5):405-10.
10. Xu Y, Huo Y, Toufektsian M-C, Ramos SI, Ma Y, Tejani AD, et al. Activated platelets contribute importantly to myocardial reperfusion injury. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 2006;290(2):H692-H9.
11. Krötz F, Sohn H-Y, Pohl U. Reactive oxygen species players in the platelet game. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 2004;24(11):1988-96.
12. Basım S. Alt Ekstremitede İskemi-Reperfüzyon Oluşturulan Ratlarda Ginkgo Biloba Egb 761' İn Barsak Anastomoz İyileşmesi Üzerine Etkisi [Uzmanlık Tezi]: T.C. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Genel Cerrahi Kliniği; 2005.

13. Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radical Biology and Medicine*. 2000;28(10):1456-62.
14. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *The Journal of pathology*. 2000;190(3):255-66.
15. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA. Ischemia/reperfusion injury. *Journal of surgical research*. 2002;105(2):248-58.
16. Wang WZ, Fang XH, Stephenson LL, Baynosa RC, Khiabani KT, Zamboni WA. Microcirculatory effects of melatonin in rat skeletal muscle after prolonged ischemia. *Journal of pineal research*. 2005;39(1):57-65.
17. Koksall C, Bozkurt AK, Sirin G, Konukoglu D, Ustundag N. Aprotinin ameliorates ischemia/reperfusion injury in a rat hind limb model. *Vascular pharmacology*. 2004;41(4):125-9.
18. Cohen LH, Kaplan M, Bernhard VM. Intraoperative streptokinase: an adjunct to mechanical thrombectomy in the management of acute ischemia. *Archives of surgery*. 1986;121(6):708-15.
19. Costa D, Moutinho L, Lima JLFC, Fernandes E. Antioxidant activity and inhibition of human neutrophil oxidative burst mediated by arylpropionic acid non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2006;29(8):1659-70.
20. Hall JE. Guyton Ve Hall Tıbbi Fizyoloji (Guyton And Hall Text Book Of Medical Physiology). Yeğen BÇ, Alican İ, Solakoğlu Z, editors: Nobel Tıp Kitabevleri; 2013. 3-40, 71-82 p.
21. Kumar V, Abbas AK, Aster jC. Hücre Hasarı, Hücre Ölümü ve Adaptasyon İnflamasyon ve Onarım. Tuzlalı S, Güllüoğlu M, Çevikbaş U, editors: Nobel Tıp Kitabevleri; 2014. 1-73 p.
22. Grace P. Ischaemia-reperfusion injury. *British Journal of Surgery*. 1994;81(5):637-47.
23. Zhao Z-Q, Vinten-Johansen J. Postconditioning: reduction of reperfusion-induced injury. *Cardiovascular research*. 2006;70(2):200-11.
24. Zimmerman B, Granger D. Reperfusion injury. *The surgical clinics of North America*. 1992;72(1):65-83.
25. Mangino MJ, Anderson CB, Murphy MK, Brunt E, Turk J. Mucosal arachidonate metabolism and intestinal ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 1989;257(2):G299-G307.
26. Stein I, Itin A, Einat P, Skaliter R, Grossman Z, Keshet E. Translation of vascular endothelial growth factor mRNA by internal ribosome entry: implications for translation under hypoxia. *Molecular and cellular biology*. 1998;18(6):3112-9.

27. Hatanaka N, Kamiike W, Shimizu S, Miyata M, Inoue T, Yoshida Y, et al. Ca²⁺ release from mitochondria induces cytosolic enzyme leakage in anoxic liver. *Journal of Surgical Research*. 1995;58(5):485-90.
28. Parr D, Wimbhurst J, Harris E. Calcium-induced damage of rat heart mitochondria. *Cardiovascular research*. 1975;9(3):366-72.
29. Granger D. Ischemia-reperfusion: mechanisms of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease. *Microcirculation*. 1999;6(3):167-78.
30. Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *Journal of lipid research*. 1998;39(8):1529-42.
31. Girotti AW. Lipid photooxidative damage in biological membranes: reaction mechanisms, cytotoxic consequences, and defense strategies. *Comprehensive Series in Photosciences*. 2001;3:231-50.
32. Semenza GL. Cellular and molecular dissection of reperfusion injury ROS within and without. *Circulation Research*. 2000;86(2):117-8.
33. López-Neblina F, Pérez-Rollos AJ, Toledo-Pereyra LH. Mechanism of protection of verapamil by preventing neutrophil infiltration in the ischemic rat kidney. *Journal of Surgical Research*. 1996;61(2):469-72.
34. McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM. Leukotrienes C₄ and D₄ stimulate human endothelial cells to synthesize platelet-activating factor and bind neutrophils. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1986;83(7):2204-8.
35. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell*. 1994;76(2):301-14.
36. Tekin İ. İloprost'un Deneysel Aortik İskemi-Reperfüzyon Modelinde Femoral Arter Endotel ve Gastroknekius Kası Hasarı Üzerine Etkisi [Uzmanlık Tezi]: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi A.B.D.; 2007.
37. Granger DN, Kubes P. The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. *Journal of Leukocyte Biology*. 1994;55(5):662-75.
38. Şener G, BÇ Y. İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim Derg*. 2009;22(3):5-13.
39. Woodfin A, Voisin M-B, Nourshargh S. PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2007;27(12):2514-23.

40. Patel KD, Zimmerman GA, Prescott SM, McEver RP, McIntyre TM. Oxygen radicals induce human endothelial cells to express GMP-140 and bind neutrophils. *The Journal of Cell Biology*. 1991;112(4):749-59.
41. Serizawa A, Nakamura S, Suzuki S, Baba S, Nakano M. Involvement of platelet-activating factor in cytokine production and neutrophil activation after hepatic ischemia-reperfusion. *Hepatology*. 1996;23(6):1656-63.
42. Chensue SW, Remick D, Shmyr-Forsch C, Beals T, Kunkel S. Immunohistochemical demonstration of cytoplasmic and membrane-associated tumor necrosis factor in murine macrophages. *The American journal of pathology*. 1988;133(3):564.
43. Frangogiannis NG, Lindsey ML, Michael LH, Youker KA, Bressler RB, Mendoza LH, et al. Resident cardiac mast cells degranulate and release preformed TNF- α , initiating the cytokine cascade in experimental canine myocardial ischemia/reperfusion. *Circulation*. 1998;98(7):699-710.
44. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen kosullar. *Klinik gelism*. 1998;11(1-2):336-41.
45. Otamiri T, Lindahl M, Tagesson C. Phospholipase A2 inhibition prevents mucosal damage associated with small intestinal ischaemia in rats. *Gut*. 1988;29(4):489-94.
46. Jassem W, Fuggle SV, Rela M, Koo DD, Heaton ND. The role of mitochondria in ischemia/reperfusion injury. *Transplantation*. 2002;73(4):493-9.
47. Carden DL, Smith JK, Korthuis RJ. Neutrophil-mediated microvascular dysfunction in postischemic canine skeletal muscle. Role of granulocyte adherence. *Circulation Research*. 1990;66(5):1436-44.
48. Reffelmann T, Hale SL, Dow JS, Kloner RA. No-reflow phenomenon persists long-term after ischemia/reperfusion in the rat and predicts infarct expansion. *Circulation*. 2003;108(23):2911-7.
49. Majno G, Ames A, Chiang J, Wright RL. No reflow after cerebral ischaemia. *The Lancet*. 1967;290(7515):569-70.
50. Halliwell B. Commentary oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free radical research*. 1996;25(1):57-74.
51. Terzi C, Kuzu A, Tanik A, Kale T, Aşlar K, Elhan A. Sıçanlarda intestinal iskemi modelinde profilaktik kısa ve uzun süreli yüksek doz Allopurinol kullanımının mortaliteye etkisi. *Klinik ve Deneyisel Cerrahi Dergisi*. 2000;8(1):10-6.
52. Ertan T, Soran A, Kılıç M, Aşlar A, Koç M, Cengiz Ö. Kan Malondialdehid ve total antioksidan seviyesinin (TAS) önemi. *Cerrahi Tıp Bulteni*. 2001;2(4):154-67.

53. Ascher E, Hollier LH, Strandness DE, Towne JB, Haimovici H, Calligaro K, et al. Haimovici's vascular surgery. Occlusive Arterial Diseases. 2008;50:373-447.
54. Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *The FASEB Journal*. 1989;3(9):2007-18.
55. Ignarro LJ, Byrns RE, Wood KS. Endothelium-dependent modulation of cGMP levels and intrinsic smooth muscle tone in isolated bovine intrapulmonary artery and vein. *Circulation research*. 1987;60(1):82-92.
56. Esmon CT, Owen WG. Identification of an endothelial cell cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1981;78(4):2249-52.
57. Kourembanas S, Marsden P, McQuillan L, Faller D. Hypoxia induces endothelin gene expression and secretion in cultured human endothelium. *Journal of Clinical Investigation*. 1991;88(3):1054.
58. Lin E, Lowry SF, Calvano SE. The systemic response to injury. *Principles of Surgery* New York: McGraw-Hill. 1999:3-51.
59. Rizk M, Witte MB, Barbul A. Nitric oxide and wound healing. *World journal of surgery*. 2004;28(3):301-6.
60. Hill GE, Robbins RA. Aprotinin but not tranexamic acid inhibits cytokine-induced inducible nitric oxide synthase expression. *Anesthesia & Analgesia*. 1997;84(6):1198-202.
61. Berkman N, Robichaud A, Robbins R, Roesems G, Haddad E, Barnes P, et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase expression by interleukin-4 and interleukin-13 in human lung epithelial cells. *Immunology*. 1996;89(3):363-7.
62. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1988;255(6):H1269-H75.
63. Wang X, Zalcenstein A, Oren M. Nitric oxide promotes p53 nuclear retention and sensitizes neuroblastoma cells to apoptosis by ionizing radiation. *Cell Death & Differentiation*. 2003;10(4):468-76.
64. Stadler J, Billiar TR, Curran RD, Stuehr DJ, Ochoa JB, Simmons RL. Effect of exogenous and endogenous nitric oxide on mitochondrial respiration of rat hepatocytes. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 1991;260(5):C910-C6.
65. Stammberger U, Carboni GL, Hillinger S, Schneider D, Weder W, Schmid RA. Combined treatment with endothelin-and PAF-antagonists reduces posttransplant lung ischemia/reperfusion injury. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 1999;18(9):862-8.

66. Souza D, Cara D, Cassali G, Coutinho S, Silveira M, Andrade S, et al. Effects of the PAF receptor antagonist UK74505 on local and remote reperfusion injuries following ischaemia of the superior mesenteric artery in the rat. *British journal of pharmacology*. 2000;131(8):1800-8.
67. Kuralay F, Çavdar Z. İnflamatuar medyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Derg*. 2006;16(3):143-52.
68. Takabayashi T, Vannier E, Clark BD, Margolis NH, Dinarello CA, Burke JF, et al. A new biologic role for C3a and C3a desArg: regulation of TNF-alpha and IL-1 beta synthesis. *The Journal of Immunology*. 1996;156(9):3455-60.
69. Armstrong L, Jordan N, Millar A. Interleukin 10 (IL-10) regulation of tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha) from human alveolar macrophages and peripheral blood monocytes. *Thorax*. 1996;51(2):143-9.
70. Drenth J, Van Uum S, Van Deuren M, Pesman GJ, Van der Ven-Jongekrijg J, Van der Meer J. Endurance run increases circulating IL-6 and IL-1ra but downregulates ex vivo TNF-alpha and IL-1 beta production. *Journal of Applied Physiology*. 1995;79(5):1497-503.
71. Dinarello C. The IL-1 family and inflammatory diseases. *Clinical and experimental rheumatology*. 2002;20(5; SUPP/27):S1-S13.
72. Cheeseman K, Slater T. An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*. 1993;49(3):481-93.
73. Şentürk T. Non-Steroid anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ). *İç Hastalıkları Derg*. 2014;2:490-5.
74. Thrane A, Skehan J, Thrane P. A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. *Medical hypotheses*. 2007;68(6):1363-70.
75. Arslan K. Alt Ekstremitenin Deneysel İskemi/Reperfüzyon Modelinde Gelişen Reperfüzyona Bağlı Böbrek Hasarına Papaverin ve Vitamin C (Askorbik Asid)'nin Etkilerinin Araştırılması [Uzmanlık Tezi]. Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi A.B.D.; 2012.
76. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *British medical bulletin*. 2004;70(1):71-86.
77. Kingston R, Kelly C, Murray P. The therapeutic role of taurine in ischaemia-reperfusion injury. *Current pharmaceutical design*. 2004;10(19):2401-10.

78. Cangel U. Alt Ekstremitte Deneysel Iskemi-Reperfüzyon Modelinde N-Asetilsistein'in Reperfüzyon Hasarının Önlenmesinde Kullanımı [Uzmanlık Tezi]. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi A.B.D.; 2000.
79. Günaydın B, Çelebi H. Genel anesteziğin serbest radikaller ve antioksidanlarla ilişkisi. *Anestezi Dergisi*. 2003;11:87-98.
80. Zweier JL, Talukder MH. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovascular research*. 2006;70(2):181-90.
81. Demiryürek A, Kennedy S, Wainwright C, Wadsworth R, Kane K. Influence of nitric oxide on luminol-enhanced chemiluminescence measured from porcine-stimulated leukocytes. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 1997;30(3):332-7.
82. Biesalski H, Böhles H, Esterbauer H, Fürst P, Gey F, Hundsdörfer G, et al. Antioxidant vitamins in prevention. *Clinical Nutrition*. 1997;16(3):151-5.
83. Andersson C-M, Hallberg A, Högborg T. Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Advances in Drug Research*. 1996;28:65-180.
84. Erdem M, Bostan B, Güneş T, Özkan F, Sen C, Özyurt H, et al. [Protective effects of melatonin on ischemia-reperfusion injury of skeletal muscle]. *Eklemler hastalıkları ve cerrahisi= Joint diseases & related surgery*. 2010;21(3):166-71.
85. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi 1. Cilt Kaslar*. Ankara: Güneş Kitabevi. 1997;2:162-8.
86. Strandness D. Metabolic Complications of Acute Arterial Occlusions and Related Conditions (Myoneuropathic-Metabolic Syndrome). *JAMA*. 1988;260(24):3679-.
87. Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Vascular*. 2002;10(6):620-30.
88. Benichoux R. Proceedings: Metabolic acidosis following regional circulatory arrest: treatment by tam, hyperventilation and hyperbaric oxygen. *The Journal of cardiovascular surgery*. 1972;14(6):573-7.
89. Blaisdell F, Steele M, Allen R. Management of acute lower extremity arterial ischemia due to embolism and thrombosis. *Surgery*. 1978;84(6):822-34.
90. Serracino-Inglott F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *The American Journal of Surgery*. 2001;181(2):160-6.
91. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature*. 1971;231(25):232-5.

92. Green GA. Understanding NSAIDs: from aspirin to COX-2. *Clinical cornerstone*. 2001;3(5):50-9.
93. Howland R, Mycek M. Lippincott's Illustrated Reviews: Farmakoloji. In: Onat F, Gören Z, Karaalp A, editors. 3 baskı Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2009. p. 495-514.
94. Chandrasekharan N, Dai H, Roos KLT, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99(21):13926-31.
95. Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Reboul P, Pelletier J. Therapeutic role of dual inhibitors of 5-LOX and COX, selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Annals of the rheumatic diseases*. 2003;62(6):501-9.
96. Scott D, Roden S, Marshall T, Kendall M. Variations in responses to non-steroidal anti-inflammatory drugs. *British journal of clinical pharmacology*. 1982;14(5):691-4.
97. Fossgreen J. Ketoprofen. A survey of current publications. *Scandinavian journal of rheumatology Supplement*. 1975;1976:7-32.
98. Kantor TG. Ketoprofen: a review of its pharmacologic and clinical properties. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 1986;6(3):93-102.
99. Brogden R, Speight T, Avery G. Ketoprofen: a preliminary report of its pharmacological activity and therapeutic efficacy in rheumatic disorders. *Drugs*. 1974;8(3):168-75.
100. Fujimura H, Tsurumi K, Hiramatsu Y, Go K, Nakano K. [Pharmacological study of ketoprofen (19583RP). Report No. 1. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities in oral administration]. *Nihon yakurigaku zasshi Folia pharmacologica Japonica*. 1974;70(4):543-68.
101. Julou L, Guyonnet J, Ducrot R, Garret C, Bardone M, Maignan G, et al. Study of Pharmacological Properties of a New Anti-Inflammatory Drug-2-(3-Benzoylphenyl)-Propionic Acid (19 583 Rp). *Journal De Pharmacologie*. 1971;2(3):259
102. Julou L, Guyonnet J, Ducrot R, Fournel J, Pasquet J. Ketoprofen (19.583 RP)(2-(3-benzoylphenyl)-propionic acid). Main pharmacological properties--outline of toxicological and pharmacokinetic data. *Scandinavian journal of rheumatology Supplement*. 1975;1976:33-44.
103. Tamisier J. Ketoprofen. *Clinics in Rheumatic Diseases*. 1979;5(2):381-91.
104. Draper H, Hadley M. [43] Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. *Methods in enzymology*. 1990;186:421-31.

105. Erkanlı K, Kayalar N, Erkanlı G, Ercan F, Sener G, Kırallı K. Melatonin protects against ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle. *Journal of pineal research*. 2005;39(3):238-42.
106. Kohlman-Trigoboff D, Gongora E, Stanford J, Smith BM. Risk factors associated with acute lower extremity ischemia after coronary revascularization. *Journal of Vascular Nursing*. 2002;20(3):78-85.
107. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 1986;250(6):G749-G53.
108. Groeneveld A, Raijmakers P, Rauwerda J, Hack C. The inflammatory response to vascular surgery-associated ischaemia and reperfusion in man: effect on postoperative pulmonary function. *European journal of vascular and endovascular surgery*. 1997;14(5):351-9.
109. Homer-Vanniasinkam S, Gough M. Role of lipid mediators in the pathogenesis of skeletal muscle infarction and oedema during reperfusion after ischaemia. *British journal of surgery*. 1994;81(10):1500-3.
110. Hearse DJ. Ischemia, reperfusion, and the determinants of tissue injury. *Cardiovascular Drugs and Therapy*. 1990;4(4):767-76.
111. Yassin MM, D'Sa AAB, Parks G, Abdulkadir AS, Halliday I, Rowlands BJ. Mortality following lower limb ischemia-reperfusion: a systemic inflammatory response? *World journal of surgery*. 1996;20(8):961-7.
112. Yildirim Y, Karakaya D, Kelsaka E, Aksoy A, Gülbahar M, Bedir A. The effect of dexketoprofen on ischemia reperfusion injury. *Bratislavske lekarske listy*. 2013;115(5):256-9.
113. Çakan M, Çakan T, Aydos T, Yilmazer D, Ögüş E, Kiliç AS. Sıçan Testisindeki iskemi-Reperfüzyon Hasarı Sonucu Oluşan Oksidatif Stres ve Histopatolojik Değişiklikler Üzerine Ketoprofenin Koruyucu Etkisi. *Türk Üroloji Dergisi*. 2007;33(1):50-5.
114. Takhtfooladi MA, Jahanshahi A, Jahanshahi G, Sotoudeh A, Takhtfooladi HA, Khansari M. Protective effect of N-acetylcysteine on kidney as a remote organ after skeletal muscle ischemia-reperfusion. *Acta Cirurgica Brasileira*. 2012;27(9):611-5.
115. Saçar M, Özcan V, Aybek H, Önem G, Demir S, Gökşin İ, et al. Vitamin C and iloprost attenuate skeletal muscle injury caused by ischemia-reperfusion of the lower extremities. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005;13(4):374-8.
116. Wehrens X, Rouwet E, Slaaf D, Ramsay G. Effects of experimental lower-limb ischaemia-reperfusion injury on the mesenteric microcirculation. *British journal of surgery*. 2002;89(2):185-91.

- 117.Yeginsu A, Ergin M, Ozyurt H, Elmas C, Akbas A, Goktas GC, et al. The effects of methylprednisolone on the lung injury resulted from extremity ischemia reperfusion. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010;18(1):45-51.
118. Gürcün U, Kurtoğlu T, Yenisey Ç, Özkısacık E, Boğa M, Dişçigil B. İskemik önkoşullama ve n-asetil sistein'in sıçan iskelet kası iskemi-reperfüzyondaki inflamatuvar süreç üzerine olan etkileri. 2012.
- 119.Sağlam D. Ultrasound homojenizasyonun karaciğer süperoksit dismutaz, glutasyon peroksidaz, katalaz enzim aktivitelerine ve lipid peroksit düzeylerine etkileri: Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2011.
120. Fridovich I. Superoxide dismutases. *Annual review of biochemistry.* 1975;44(1):147-59.
- 121.Ozkan F, Şenayli Y, Ozyurt H, Erkorkmaz U, Bostan B. Antioxidant effects of propofol on tourniquet-induced ischemia-reperfusion injury: an experimental study. *Journal of Surgical Research.* 2012;176(2):601-7.
- 122.Halici M, Narin F, Turk C, Saraymen R, Baykan A, Kabak S. The effect of melatonin on plasma oxidant-antioxidant skeletal muscle reperfusion injury in rats. *Journal of international medical research.* 2004;32(5):500-6.
- 123.Ozyurt H, Ozyurt B, Koca K, Ozgocmen S. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protects rat skeletal muscle against ischemia–reperfusion-induced oxidative stress. *Vascular pharmacology.* 2007;47(2):108-12.
- 124.Baltarlı A, Ozcan V, Ferda B, Aybek H, Sacar M, Onem G, et al. Ascorbic acid (vitamin C) and iloprost attenuate the lung injury caused by ischemia/reperfusion of the lower extremities of rats. *Annals of vascular surgery.* 2006;20(1):49-55.
- 125.Koksel O, Ozdulger A, Aytacoglu B, Tamer L, Polat A, Sucu N, et al. The influence of iloprost on acute lung injury induced by hind limb ischemia-reperfusion in rats. *Pulmonary pharmacology & therapeutics.* 2005;18(4):235-41.(3)

TABLÖLAR VE GRAFİKLER

Tablo 2.1: Oksijen bileşikleri	20
Tablo 2.2: Enzim yapısında antioksidanlar	24
Tablo 2.3: Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçların grupları	29
Tablo 4.1: Kontrol grubu serum SOD ve serum MDA değerleri	44
Tablo 4.2: İ/R grubu serum SOD ve serum MDA değerleri	44
Tablo 4.3: İ/R + Ketoprofen grubu serum SOD ve serum MDA değerleri	45
Tablo 4.4: Serum SOD ve serum MDA ortalama değerler ± standart sapmalar	45
Tablo 4.5: Kontrol ve İ/R grubu istatistiksel karşılaştırma	46
Tablo 4.6: Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma	47
Tablo 4.7: İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma	47
Tablo 4.8: Kontrol ve İ/R grubu istatistiksel karşılaştırma	48
Tablo 4.9: Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma	49
Tablo 4.10: İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma	49
Tablo 4.11: Kontrol grubu doku SOD ve doku MDA değerleri	50
Tablo 4.12: İ/R grubu doku SOD ve doku MDA değerleri	50
Tablo 4.13: İ/R + ketoprofen grubu doku SOD ve doku MDA değerleri	51

Tablo 4.14: Doku SOD ve doku MDA ortalama değeri	51
± standart sapmalar	
Tablo 4.15: Kontrol ve İ/R grubu istatistiksel karşılaştırma	52
Tablo 4.16: Kontrol ve İ/R +ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma	53
Tablo 4.17: İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma	53
Tablo 4.18: Kontrol ve İ/R grubu istatistiksel karşılaştırma	54
Tablo 4.19: Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma	55
Tablo 4.20: İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma	55
Tablo 4.21: Kontrol grubu histopatolojik inceleme	56
Tablo 4.22: İ/R grubu histopatolojik inceleme	56
Tablo 4.23: İ/R + ketoprofen grubu histopatolojik inceleme	57
Tablo 4.24: Histopatolojik inceleme istatistiksel ortalama	57
± standart sapma değerleri	
Tablo 4.25: Kontrol ve İ/R grubu istatistiksel karşılaştırma	59
Tablo 4.26: Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma	59
Tablo 4.27: İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma	60
Tablo 4.28: Kontrol ve İ/R grubu istatistiksel karşılaştırma	61
Tablo 4.29: Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma	62
Tablo 4.30: İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma	62

Tablo 4.31: Kontrol ve İ/R grubu istatistiksel karşılaştırma	63
Tablo 4.32: Kontrol ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma	64
Tablo 4.33: İ/R ve İ/R + ketoprofen grubu istatistiksel karşılaştırma	64
Grafik 4.1: Serum SOD ortalama değerleri	46
Grafik 4.2: Serum MDA ortalama değerleri	48
Grafik 4.3: Doku SOD ortalama değerler	52
Grafik 4.4: Doku MDA ortalama değerler	54
Grafik 4.5: Gastrocnemius kası histopatolojik inceleme ortalama değerleri	58
Grafik 4.6 : Kas lifi düzensizliği ortalama değerleri	58
Grafik 4.7: Hemoraji ortalama değerleri	61
Grafik 4.8: İnflamatuvar hücre artışı ortalama değerleri	63

ŞEKİLLER VE RESİMLER

Şekil 2.1 : Hücre Hasarı	5
Şekil 2.2 : Geri dönüşümlü (reversibl) ve geri dönüşümsüz (irreversibl) hasar	6
Şekil 2.3 : Nekroz ve Apoptoz	7
Şekil 2.4 : İ/R hasarında lökosit-endotel etkileşimi	11
Şekil 2.5: Lipid peroksidasyonu	21
Şekil 2.6: Antioksidan enzim reaksiyonları	25
Şekil 2.7: Araşidonik asit (AA) metabolizması siklooksijenaz (COX) yolu	30
Şekil 2.8: Araşidonik asit (AA) metabolizması lipooksijenaz yolu	31
Şekil 2.9: Ketoprofen (2- (3- benzolphenyl) -propiyonik asit) yapısal formülü	33
Resim 3.1: Deneyde kullanılan cerrahi alet ve malzemeler	37
Resim 3.2: Femoral arter ve femoral ven serbestleştirilmesi	37
Resim 3.3: Kontrol grubu femoral arter ve femoral vene herhangi bir işlem uygulanmadı cilt ve cilt altı ipek sütür ile yaklaştırıldı	38
Resim 3.4: İskemi sonrası sıçan alt ekstremitesi (İskemik renk değişikliği)	39
Resim 3.5: İ/R sonrası ilaç uygulanan sıçan alt ekstremitesi (iskemik renk değişikliğinde gerileme)	40
Resim 4.1: Kontrol grubuna ait iskelet kas dokusunun enine kesitlerinde hücre çekirdeklerinin periferde yer aldığı, hemoraji, inflamasyonun olmadığı görülmektedir.	65

Resim 4.2: Kontrol grubuna ait kas dokusunun boyuna geçen kesitinde kas liflerinin düzgün sıralandığı görülmektedir.	65
Resim 4.3: İskemik grupta kas liflerinin birbirinden ayrıldığı, hemorajinin (oklar) çok belirgin olduğu görülmektedir.	66
Resim 4.4: İskemi grubunda düzensiz kas lifleri arasında artmış inflamatuvar hücreler (oklar) görülmektedir.	66
Resim 4.5: İskemi grubuna ait kas liflerinde çekirdek artışının (oklar) çok fazla olduğu görülmektedir.	67
Resim 4.6: Ketoprofen verilen grupta kas liflerinin arasındaki hemorajinin azaldığı görülmektedir.	67
Resim 4.7: Ketoprofen verilen grupta kas liflerinde çekirdek sayısının (oklar) devam ettiği ancak iskemik gruba göre daha az olduğu görülmektedir.	68

KISALTMALAR

İ/R: İskemi/reperfüzyon
PMNL: polimorf nüveli lökositler
COX: Siklooksijenaz
RNS: Reaktif nitrojen türevlerini
NSAİİ: Non-steroid anti-inflamatuvar ilaç
MDA: Malondialdehid
SOD: Süperoksit dismutaz
HE: Hemotoksilen eozin
ATP: Adenozintrifosfat
LTB4: Lökotrien B4
C5a: Kompleman komponent 5a
PAF: Trombosit aktive edici faktör
VCAM-1: Vasküler hücre adezyon molekülü-1
ICAM-1: Hücrelerarası adezyon molekülü-1
PECAM-1: Platelet endotelyal hücre adezyon molekülü-1
TNF- α : Tümör nekroz faktör alfa
MPO: Myeloperoksidaz
EDRF: Endotelial derived relaxing faktör
NO: Nitrik oksit
IL: İnterlökin
AA: AraşidonikAsid
PGE: Prostoglandin E
O₂⁻: Süperoksit radikali
OH[•]: Hidroksil radikali
H₂O₂: Hidrojen peroksit radikali
CPK: Kreatin fosfokinaz
LDH: Laktat dehidrogenaz
SGPT: Serum glutamik pürivik transaminaz
SGOT: Serum glutamik oksaloasetik transaminaz