



**DİZ ARTROPLASTİSİ SIRASINDA OLUŞAN
TURNİKE İSKEMİSİNDE E VİTAMİNİNİN
KLİNİK ÖNEMİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Arş. Grv. Dr. Yılmaz KAYA

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Gökhan MARALCAN**

**TIP FAKÜLTESİ ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ
ANABİLİM DALI
AFYONKARAHİSAR 2014**

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**DİZ ARTROPLASTİSİ SIRASINDA OLUŞAN
TURNİKE İSKEMİSİNDE E VİTAMİNİNİN
KLİNİK ÖNEMİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Arş.Grv.Dr. Yılmaz KAYA

DANIŞMAN

Doç. Dr. Gökhan MARALCAN

AFYONKARAHİSAR 2014

Bu tez Çalışması BAPK tarafından desteklenmiştir. Proje No: 13.TUS.11

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**Tez başlığı :Diz artroplastisi sırasında oluşan turnike
iskemisinde E vitamininin klinik önemi**

Tezi Hazırlayan : Dr.Yılmaz KAYA
Tez Kabul Tarihi : 26.11.2014
Tez Danışmanı : Doç.Dr.Gökhan MARALCAN

İş bu jürimiz tarafından **ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ**
ANABİLİM DALI 'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN
Doç.Dr.Gökhan MARALCAN

ÜYE
Prof.Dr.Tülay KÖKEN

ÜYE
Doç.Dr.Ulukan İNAN

DEKAN
Prof.Dr.Ahmet SONGUR

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda büyük emeği geçen tez danışmanım, aynı zamanda uzmanlık eğitimim süresince yakın ilgi ve deneyimleri ile beni destekleyen hocam Doç. Dr. Gökhan MARALCAN'a

Kıymetli hocalarım Prof.Dr.Levent ALTINEL, Doç.Dr.Özal ÖZCAN, Doç.Dr.Hakan BOYA, ,Yrd.Doç.Dr Mehmet Serhan ER, Yrd.Doç.Dr.Ali Fuat KARATAŞ, Yard.Doç.Dr.İhsan ŞENTÜRK, Yard.Doç.Dr.Murat YEŞİL, Yard.Doç.Dr.Mehmet Nuri KONYA, Yard.Doç.Dr.Mehmet EROĞLU'na,

İstatistik değerlendirmede yardımını esirgemeyen Prof.Dr.Nurhan DOĞAN'a, tez çalışmalarımındaki katkılarından dolayı Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Tülay KÖKEN'e ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında görevli asistan arkadaşlarıma,

Tez çalışmamda manevi yardımlarıyla destek olan eşime ve aileme birlikte çalışmaktan onur duyduğum sevgili asistan arkadaşlarıma ve tüm dostlarıma,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
KISALTMALAR	IV
TABLolar ÇİZELGESİ	VI
ŞEKİLLER ÇİZELGESİ	VII
I. GİRİŞ VE AMAÇ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
2.1. TURNİKE	3
2.2. TURNİKE KULLANIMI	4
2.3. TURNİKE'YE BAĞLI KOMPLİKASYONLAR	5
2.3.1. SİSTEMİK ETKİLER	5
2.3.2. LOKAL ETKİLER	7
2.4. İSKEMİ VE REPERFÜZYON HASARI	9
2.4.1. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ	10
2.4.2. LÖKOSİTLER VE ENDOTEL HASARI	11
2.5. ANTİOKSİDANLAR	12
2.5.1. SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (SOD)	14
2.5.2. KATALAZ	14
2.5.3. GLUTATYON PEROKSİDAZ (GSH-PX)	15
2.5.4. GLUTATYON REDÜKTAZ (GR)	15
2.5.5. GLUTATYON -S-TRANSFERAZ(GST)	16
2.5.6. GLUTATYON (GSH)	16
2.5.7. KSANTİN OKSİDAZ	16
2.6. ANTİOKSİDAN OLARAK E VİTAMİNİ	17
III. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. ÇALIŞMA GRUBUNUN OLUŞTURULMASI	19
3.2. ANESTEZİ PROSEDÜRÜ	20
3.3. LABORATUVAR ÇALIŞMALARI	20
3.3.1. ERİTROSİT HEMOLİZATININ HAZIRLANMASI	20
3.3.2. HEMOLİZAT HEMOGLOBİN TAYİNİ	21

3.3.3. ERİTROSİT TOTAL GSH ÖLÇÜMÜ	21
3.3.4. PLAZMA TBARS ÖLÇÜMÜ	22
3.3.5. PLAZMA NOX ÖLÇÜMÜ	22
3.3.6. PLAZMA KSANTİN OKSİDAZ ÖLÇÜMÜ	22
3.4. İSTATİKSEL ANALİZ	23
IV. BULGULAR	24
V. TARTIŞMA	30
VI. SONUÇ	36
VII. ÖZET	37
VIII. SUMMARY	38
IX. KAYNAKLAR	39

TABLÖLAR ÇİZELGESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo I: İskemi ve reperfüzyon hasarına karşı koruyucu mekanizmalar	13
Tablo II: Grupların demografik özellikleri	24
Tablo III: MDA sonuçları	24
Tablo IV: Grupların XOD değerleri	25
Tablo V: Grupların GSH değerleri	27
Tablo VI: Grupların NOx değerleri	28

ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1: Romalılar tarafından kanamayı kontrol etmek için kullanılan turnike	3
Şekil 2: İskemi ve reperfüzyon hasarı mekanizmaları	10
Şekil 3: E vitaminin kimyasal yapısı	17
Şekil 4: Grupların MDA değerlerinin zaman değişkenine göre karşılaştırılması	25
Şekil 5: Grupların XOD değerlerinin zaman değişkenine göre karşılaştırılması	26
Şekil 6: Grupların GSH değerlerinin zaman değişkenine göre karşılaştırılması	27
Şekil 7: Grupların NO değerlerinin zaman değişkenine göre karşılaştırılması	28

KISALTMALAR

ATP :	Adenozin Trifosfat
Ca ⁺² :	Kalsiyum
CO ₂ :	Karbondioksit
Cu :	Bakır
C3a :	Kompleman 3a
C5a :	Kompleman 5a
GSH :	Glutasyon
GSH-Px :	Glutasyon peroksidaz
GSSG:	Glutasyon disülfür
GR:	Glutasyon Redüktaz
GST:	Glutasyon S transferaz
H ₂ O ₂ :	Hidrojen Peroksit
HOCl- :	Hipoklorik Asid
IL :	İnterlökin
LTB ₄ :	Lökotrien B 4
LTC ₄ :	Lökotrien C 4
LTD ₄ :	Lökotrien D 4
MDA :	Malondialdehit
NADP :	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NAD :	Nikotinamid adenin dinükleotid
NO :	Nitrik oksit
OH ⁻ :	Hidroksil radikali
O ₂ :	Oksijen
O ₂ ⁻ :	Süperoksit anyon radikali
PAF :	Trombosit aktive edici faktör
PGE ₁ :	Prostoglandin E1
PGF _{2α} :	Prostoglandin F2 alfa
PGI ₂ :	Prostoglandin I2
PNML :	Polimorfonükleer lökosit
SOD :	Superoksit dismutaz

SOR :	Serbest oksijen radikali
TNF- α :	Tümör nekroz faktörü- α
TXA2 :	Tromboksan A2
VEGF :	Vasküler endotelyal growth faktör
XOD :	Ksantin oksidaz
I/R+E:	İskemi ve reperfüzyon + E vitamini grubu
I/R:	İskemi ve reperfüzyon grubu



I.GİRİŞ

Yaşlı nüfusun artması ve obezitenin yaygınlaşması sonucu diz osteoartritinin görülme sıklığı artmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde 2010 yılında tüm yaş gruplarında 600.000'den fazla total diz artroplastisi yapılmıştır. Yaşlı nüfusun artışı sebebiyle 2030 yılında yılda yaklaşık 4 milyon total diz artroplastisi yapılacağı tahmin edilmektedir (1).

Diz artroplastisi cerrahisinde kullanılan turnikenin kan kaybını azalttığı düşüncesi literatür verilerine göre tartışmalıdır. Turnike kullanımının intraoperatif kanamayı azaltsa da total kan kaybını azaltmadığı çeşitli çalışmalarda vurgulanmıştır. Diz artroplastisi sırasında rahat bir cerrahi saha ve sementleme için kansız bir ortam sağladığı için diğer ortopedik prosedürlerde olduğu gibi sıkça kullanılır. Amerika Birleşik Devletleri 'nde günde 15000'in üzerinde turnike kullanımı gerçekleşir (2).

Rutin ortopedi pratiğinde turnikenin cerrahiye sağladığı katkılara rağmen turnike kullanımının, iskemi ve reperfüzyon hasarına sekonder birçok komplikasyona yol açtığı bilinmektedir. Bunların başında yara yeri komplikasyonları, kas hasarları, nörolojik hasarlar, derin ven trombozu riskinde artış ve birçok sistemik etkiler yer almaktadır.

Literatüre göre turnike uygulamaları sonrasında meydana gelen sinir hasarlarının sıklığı %0,1 ile %7,7 arasında değişmektedir (3). Biz de kliniğimizde yapılan diz artroplastisi ameliyatlarından sonra görülen atipik parestezi veya hipoestezilerin veya cerrahi sonrası kas güçsüzlüklerinin yapılan cerrahinin başarısını etkilediğini gözledik.

Bu hasarların oluşmasının ana sebebi turnikenin yol açtığı iskemi ve reperfüzyon hasarıyla ortamda fazla miktarda oluşan serbest oksijen radikalleridir(SOR). Reperfüzyon ile birlikte iskemi sürecinde meydana gelen doku hasarı daha da artmaktadır. İskemi ve reperfüzyona bağlı oluşan hasarın önlenmesinde antioksidan sistemler rol almaktadır. Organizmada bu hasarları önlemek ve onarmak için birçok enzim ve onarım yolları mevcuttur.

Bu çalışma diz artroplastisi sırasında oluşan turnike iskemisi ve buna bağlı reperfüzyon hasarlarını önlemede intramusküler E vitamini uygulamasının etkisi olup olmadığını göstermek amacıyla yapılmıştır.



II.GENEL BİLGİLER

2.1.TURNİKE

Günümüzde kullanılan modern pnömatik turnikelerin kökeni Roma İmparatorluğuna kadar ilerler (Şekil 1). İnsanların kullandığı ilk turnikelerin amacı savaş sırasında oluşan ekstremite amputasyonlarına bağlı kanamayı durdurmaktı.

1873 yılında Esmarch; esmarch bandajını, 1904 yılında Harvey Cushing ise günümüzde kullandığımız pnömatik turnikeyi tanımlamıştır (4) .



Şekil 1:Romalılar tarafından kanamayı kontrol etmek için kullanılan turnike
(<http://www.scienceandsociety.co.uk/>)

Teknolojinin gelişmesiyle elektronik olarak kontrol edilen turnikeler sayesinde, hasta güvenliği artmış, komplikasyon oranları ise azalmıştır. Tüm bu gelişmelere rağmen turnike manşonlarının kompresyonuna ve iskemi ve reperfüzyon hasarına bağlı doku hasarları günümüzde hala meydana gelmektedir.

Turnikenin ekstremitte cerrahisinde yaygın olarak kullanımı Klenerman'ın çalışmaları ile başlamıştır (5).

2.2.TURNİKE KULLANIMI

Ekstremitenin Boşaltılması:

Ekstremitenin boşaltılması turnikenin şişirilmesi aşamasından önce yapılır. Esmarch bandajı sararak ekstremitenin kanının boşaltılması tümör hücrelerinin veya enfeksiyonun yayılmasına, ölümcül embolilerle sonuçlanabilen derin ven trombozunda artışa sebep olabilir (6). Ekstremitenin elevasyonu ise esmarch bandajına göre daha az etkili bir yöntem olmasına rağmen; daha güvenli ve kolay bir işlemdir (2). Üst ekstremitte için kolun 90 derecede 5 dakika kadar, alt ekstremitte için ise bacağın 45 derecede 5 dakika kadar elevasyonda tutulması yeterlidir.

Turnike Basıncı:

Turnikenin güvenle kullanılabilmesi için alt ekstremitte için sistolik kan basıncının 100-150 mmHg, üst ekstremitte için ise sistolik basıncın 50-75 mmHg üzerine çıkılması önerilmekle birlikte turnike basıncının cerrahi sırasında kan basıncı ile kontrol edilmesi önemlidir(7). Venöz akımı durduran fakat arteriyel akımı durduracak kadar yüksek olmayan basınçlarda venöz göllenme oluşabilir. Bu durumda cerrahiyi etkileyecek kanamalar meydana gelebilir.

Kullanılacak turnike manşonunun şekli de çok önemlidir. Obez ve kaslı hastalar için konik tipteki turnike manşonu kullanılarak manşonun kenarlarına orantısız basınçların etki etmesi engellenmelidir. Turnike manşonunun genişliği de önemlidir. Geniş bir turnike manşonunun, daha dar olana göre daha düşük basınçlarda kan akımını engellediği bilinmesine rağmen; geniş bir turnike

manşonuna bağlı olası lokal komplikasyonlar(cilt nekrozu,büller) daha fazla görülür(8).

2.3 TURNİKEYE BAĞLI KOMPLİKASYONLAR

Turnike kullanımı her ne kadar cerrahın işini kolaylaştırsada bir takım küçük ya da büyük komplikasyonlara sebep olabilir. Bu komplikasyonlar sistemik, manşonun doğrudan basısı ile ilişkili veya turnike distalindeki dokuların iskemisine bağlı lokal olarak görülebilir.

2.3.1 SİSTEMİK ETKİLER

Kardiyovasküler Etkiler

Hemodinamik etkiler sağlıklı bireylerde çok büyük problemlere yol açmazken kardiyak rezervi düşük olan hastalarda ekstremitenin boşaltılmasını ve turnikenin şişirilmesini takiben sistemik dolaşan kan miktarında ve sistemik damar direncinde artışa sebep olur.

Her iki alt ekstremitye turnike uygulaması sonrası sistemik dolaşan kan miktarında %15 (erişkinde 800 ml) artış olur. Bu durum santral venöz basınçta ve sistolik kan basıncında geçici bir artışa sebep olur. Her iki alt ekstremitye turnike uygulaması sonrası görülen kardiyak arrest vakaları bildirilmiştir(9). Yine turnikenin indirilmesi sonrası sistolik kan basıncında 15 dakikalık geçici bir hipotansiyon meydana gelir.

Solunum ile ilgili Etkiler

Turnike manşonunun indirilmesini takiben end-tidal karbondioksit basıncında yükselme olur. Bu artışın sebebi hiperkapnik venöz kanın iskemik bölgeden sistemik dolaşıma geçişi ve kardiyak outputun artışıdır.

Hematolojik Etkiler

Turnike uygulamasından sonra koagulasyon ve fibrinolizde çeşitli değişiklikler meydana gelir. Aslında cerrahi faktörler turnikeden bağımsız olarak bu sürece sebep olabilir (10). Turnike ağrısının sebep olduğu katekalomin salınımı trombosit agregasyonuna sebep olur (11).

Esmarch bandajının kullanımı trombositlerin agregasyonunu artırır(12). Turnike uygulaması sonrası oluşan doku iskemisi doku plasminogen aktivatörünün salınımını artırır (13). Bu süreç sistemik trombolizle sonuçlanır. Katsumata ve arkadaşları turnike kullanılan ve kullanılmayan diz artroplastisi hastalarını karşılaştırdıkları bir çalışmada, turnike kullanılan grupta derin ven trombozu (DVT) ve pulmoner tromboembolizmin daha fazla görüldüğünü belirtmişlerdir (14).

Ekstremitenin boşaltılması ve turnikenin şişirilmesini takiben görülen birçok fatal pulmoner emboli vakaları mevcuttur (15, 16). Bazı yazarlar derin ven trombozu açısından yüksek riskli hastalarda turnike kullanımının kontrendike olduğunu vurgulamışlardır. Özellikle uzun süre hareketsiz kalan alt ekstremitte travmalarında, venöz tromboz öyküsü bulunan hastalarda derin ven trombozu için riskin yüksek olduğunu bildirilmiştir. Diz artroplastisi sırasında turnikenin indirilmesini takiben transözefagial ekokardiyografide küçük veya büyük venöz emboliler gösterilmiştir (17). Diz artroplastisindeki bir diğer potansiyel fatal emboli nedeni femoral kanalın hazırlanması, oyulması veya femoral stemin yerleştirilmesidir (18).

Aki Fukuda ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada diz artroplastisinde turnike kullanmanın DVT riskini arttırmadığını savunmuşlardır. Diz artroplastisi sonrası DVT riskinin turnikeli veya turnikesiz yüksek olduğunu ve erken tanı ile fatal pulmoner embolilerden ve kardiyovasküler komplikasyonlardan korunabileceğini vurgulamışlardır (19).

2.3.2 LOKAL ETKİLER

Sinir Hasarı

Norveç’de yapılan bir çalışmada turnikeye bağlı oluşan sinir hasarı sıklığının üst ekstremitede 1/6155, alt ekstremitede ise 1/3752 olduğu bununla birlikte turnike kaynaklı sinir hasarlarının oranının tahmin edilenden daha fazla olduğu bildirilmiştir (3).

Üst ekstremitede en sık radial sinir, alt ekstremitede ise daha çok peroneal sinirin hasarlanması görülür (20). Turnike sonrası oluşan sinir hasarı ile ilgili birçok vaka bildirimi mevcuttur. Oluşan sinir hasarı sebepleri arasında turnike kaynaklı anormal basınçlar, esmarch bandajı ile yapılan turnike uygulamaları gösterilmiş. Bu yüzden ekstremitenin kanını boşaltmak için esmarch bandajı yerine ekstremitenin elevasyonu önerilir (21).

Oluşan sinir hasarı genellikle ekstremitede distalindeki iskemiden çok mekanik kompresyona bağlıdır. Turnike manşonunun proksimal ve distal kenarlarında makaslama kuvvetleri fazla olduğundan hasarın buralarda görülmesi muhtemeldir. Sinir hasarlarının büyük bir kısmı 6 aydan daha kısa bir sürede geriler.

Kas Hasarı:

Turnikenin neden olduğu kas hasarı hem iskemik hem de mekanik etkiler sonucu oluşur. Kaslardaki anaerobik metabolizma sonucu laktat konsantrasyonunda ve karbondioksit miktarında artış olurken; kreatin fosfat ,glikojen ve adenozin trifosfat(ATP) miktarında azalma meydana gelir.

Yapılan hayvan deneyleri ve insan çalışmaları sonucunda turnikenin altındaki kas dokusundaki histolojik değişiklikler turnike uygulamasının 2 saatinden sonra görülür. Buna karşılık turnikenin distalindeki kas dokularında histolojik değişiklikler turnike uygulamasının 4.saatinde başlar (22).

Kas iskemisi, ödem ve mikrovasküler geçirgenlikte artma sonucu çok sık görülen ‘post-tourniquet sendromu ile karşılaşılabilir. Bu sendrom genellikle turnike uygulamasından sonraki 1-6 haftalarda görülür. Paralizi görülmeden ;kaslarda sertlik, şişlik, zayıflık ve solukluk ile karakterizedir (6).

Turnike uygulaması sonrası görülen kas hasarlarının sonucu olarak diz cerrahisi geçiren hastaların düz bacak kaldırma güçlerine bakıldığında iyileşme periyotlarında anlamlı gecikmeler olduğu görülmüştür. Bu duruma iskemik miyopati, ağrı ve nöropraksinin de katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Tüm bu sebeplerden dolayı hastaların rehabilitasyon sürelerinde uzamalar olmuştur (23).

Vasküler Hasar:

Total diz artroplastisinde vasküler hasar çok sık görülen bir komplikasyon değildir. Bu tür komplikasyonlar daha çok periferik vasküler hastalık öyküsü olan hastaların alt ekstremitelerinde görülür. Rush ve arkadaşları turnikenin oluşturduğu mekanik basınç nedeniyle aterom plağında kırılmalara ve arteriyel tromboza sebep olduğunu bildirmişlerdir (24). Rush ve arkadaşları her turnike kullanımı sonrası dikkatli fizik muayane yapılması gerekliliğini vurgulamışlardır.

Kumar ve arkadaşları; distal nabızları alınamayan, zayıf kapiller dolumu olan, femoropopliteal sistemde kalsifikasyonu olan veya ilgili ekstremitede vasküler cerrahi öyküsü olan hasta grubunda turnike kullanımı önermemişlerdir (25).

Cilt Hasarı:

Cilt hasarı turnike manşonunun mekanik basısına bağlı oluşur. Genellikle oluşan hasarlar turnike basıncı ve süresi ile ilişkilidir. Cilt hazırlığı için kullanılan antiseptik solüsyonlar kimyasal yanıklara sebep olabilir. Bununla birlikte alt ekstremitte cerrahisi sırasında oluşan yara yeri hipoksisi turnike kullanılan hastalarda kullanılmayanlara göre daha fazla bulunmuştur. Bu durum yara iyileşmesinde sorunlara ve yüzeysel enfeksiyonlara sebep olabilir (26).

Charlotta Olivecrona ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada cilt hasarını önlemek amacıyla turnike altına kullanılacak malzemeyi karşılaştırmışlar ve sonuç olarak elastik sitokinetin, alçı pamuğuna göre daha koruyucu olduğunu göstermişlerdir (27).

2.4 İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI

Turnikeye bağılı oluşan doku hasarları mekanik ve sistemik etkilerin yanında iskemi ve reperfüzyona bağılı olarak da meydana gelir. Bir dokuya giden kan akımının kesilmesi sonucu doku beslenmesinin bozulmasına iskemi denir. Dokuya tekrar kan akımının gelmesi ise reperfüzyon olarak ifade edilir.

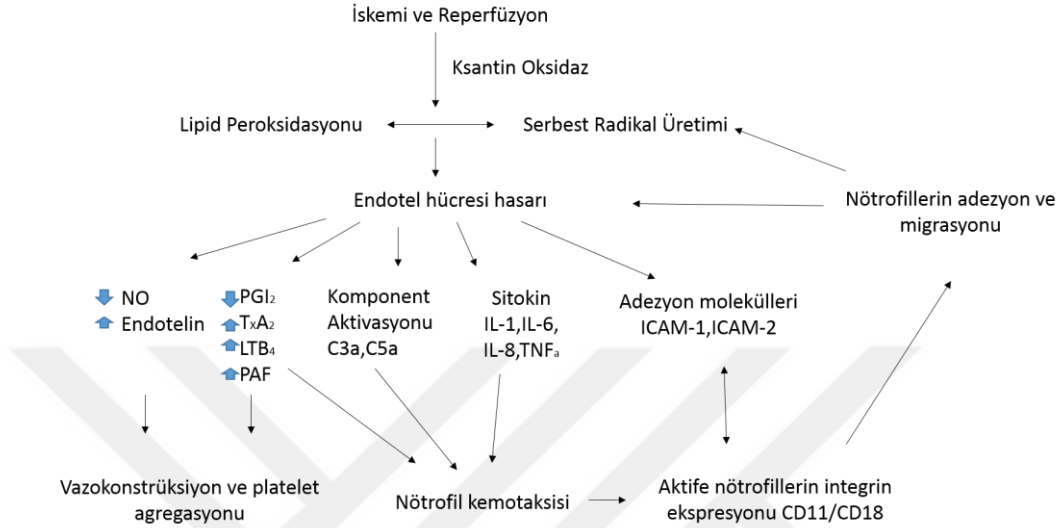
İskemik dokulara tekrar kan akımı sağılandığında paradoksal olarak reperfüzyon, dokularda iskeminin oluşturduğı hasardan daha fazla bir hasarlanmaya neden olur. Bu duruma iskemi reperfüzyon hasarı denir. İskemi ve reperfüzyon hasarı meydana gelen fizyolojik, biyokimyasal ve immünolojik değışiklikler nedeniyle lokal olduğı kadar sistemik sonuçlar da doğurur. Reperfüzyon hasarı dokudan dokuya değışiklik gösterir ve bu hasardan genellikle serbest radikaller sorumludur (28). Meydana gelen hücresel hasar organ veya ekstremitenin fonksiyon kaybına hatta ölümüne sebep olabilir.

İskemi reperfüzyon hasarı yaygın ve sık görülen klinik bir problemdir. Organ yetmezliğı, miyokard infarktüsü, kronik diabetik yaralar, bası ülserleri ve organ transplantasyonunun etiyopatogenezinde iskemi ve reperfüzyon hasarı söz konusudur (29).

İskemi reperfüzyon hasarının fizyopatolojisine ilişkin çeşitli teoriler ileri sürülmüştür. İskemi ve reperfüzyon hasarının aslında granülositlerin kilit rol oynadığı bir çeşit akut inflamasyon olduğı bilinmektedir. Uzamış iskemi süreleri sonrası hücre içi enerji depolarında azalma ve bir takım toksik metabolitlerin artması söz konusudur.

Bununla beraber ortamda artan serbest oksijen radikalleri reperfüzyon sürecini alevlendirir. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu kemotaktik uyarıların artması ve adezyon moleküllerinin ekspresyonu ve aktivasyonu ile sonuçlanır. Lökositlerin diapedezi mikrovasküler bariyere zarar vererek mikrovasküler

geçirgenlikte artışa sebep olur. Reaktif oksijen türleri ve aktive olmuş nötrofiller iskemi ve reperfüzyon hasarına sebep olan ana faktörlerdir.



Şekil 2: İskemi ve reperfüzyon hasarı mekanizmaları(30)

2.4.1 SERBEST OKSİJEN RADİKALLER

Çoğunu serbest radikallerin oluşturduğu reaktif oksijen türleri, normal oksijen molekülüyle karşılaştırıldığında, kimyasal reaktivitesi daha yüksek olan oksijen formlarıdır. Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH^\cdot$), hidroklorik asit ($HOCl$) başlıca serbest oksijen radikallerindendir (31).

Ksantin oksidaz iskelet kasında serbest oksijen radikali üretiminde başlıca rol oynar. Bu enzim iskelet kasında mikrovasküler endotel hücrelerinde bulunur. Normal fizyolojik koşullarda hipoksantin, ksantin dehidrojenaz enzimi tarafından ksantine oksitlenmektedir. Bununla birlikte iskemi sırasında ksantin dehidrojenaz ksantin oksidaza dönüştürülür. Ksantin dehidrojenaz substrat olarak nikotinamid adenin dinükleot (NAD^+) kullanmasına rağmen ksantin oksidaz oksijen kullanır. Dolayısıyla iskemi sırasında hipoksantin ksantine çevirilemez ve

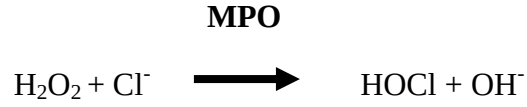
hipoksantin birikir. Reperfüzyonla birlikte hipoksantin ksantin oksidaz enzimi tarafından reaktif oksijen türlerine çevirilir (32).

Serbest oksijen radikalleri, hücre membranı hasarına ve sonrasında nötrofil aktivasyonuna sebep olan potent oksidan ve indirgeyici maddelerdir. İskeminin başlaması ve sonrasında oluşan reperfüzyonda oksijen metabolizması değişir ve bunun sonucunda serbest oksijen radikalleri birikir. Normal koşullarda oksijenin %95'i hücrede mitokondri tarafından tüketilir. İskemi ile birlikte antioksidan mekanizmalar azalır hidrojen peroksit ve hidroksil gibi radikaller hücre membranına, lipitlere, proteinlere zarar vermeye başlar. Reperfüzyonla birlikte serbest oksijen radikali üretimi dramatik olarak artar.

2.4.2 LÖKOSİTLER VE ENDOTEL HASAR

Endotel hasarı iskemi ve reperfüzyon hasarı sırasında membranların oksidatif hasarı, iyon dengesindeki değişiklikler ve osmotik stress sonucunda meydana gelir. İskemi ve perfüzyon hasarı membranların geçirgenliğinde değişikliğe ve hücre iskeletinin bozulmasına sebep olur

İskemi ve reperfüzyon hasarı lökosit aktivasyonuna, kemotaksise, lökosit-endotelyal hücre adezyonuna ve transmigrasyona neden olur (32). Serbest radikallerin oluşumunda ve iskemi ve reperfüzyon hasarında önemli bir kaynak olan nötrofillerin inflamasyonda görevli olan dört çeşit granülleri vardır. Bunlar azurofilik granüller, spesifik granüller, gelatinaze granülleri ve sekretuar granüllerdir. Azurofilik granüllerinde nötral proteaz, elastaz ve miyeloperoksidaz (MPO) ezimlerini içerirler. MPO hidrojen peroksit ve kloridin; hidroklorik asit ve hidroksil radikale dönüşümünü katalize eder. Hidroksil radikali se oldukça reaktif olup DNA hasarına ve lipid peroksidasyonuna sebep olur (33).



Nötrofillerin aktivasyonu ile nötrofil sekonder granüllerden salıverilen apolaktoferrin, plazminojen aktivatörü, komplemanı aktive eden enzim ve elastaz, kolajenaz, ve jelatinaz gibi proteolitik enzimler damar endotelinde hasara neden olmaktadır. Proteinazların etkisi ile damar duvarında yapının değişimi ve duvar yapısının gevşemesi ile nötrofillerin dokuya geçişi kolaylaşır (34).

2.5 ANTİOKSİDANLAR

Vücutta oluşan serbest oksijen radikallerinin; oksidan ve antioksidan mekanizmalar arasındaki dinamik dengenin sonucunda, zararlı etkileri ortaya çıkmaz. Vücutta oluşan bir takım olaylar sonucunda bu dengenin oksidasyon lehine değişmesi halinde oksidatif hasar gelişebilmektedir.

İskemi-reperfüzyon hasarlanmasını durduran birçok endojen yollar bulunmakla beraber, ekzojen olarak da hasarlanmayı engelleyebilen bir çok ilaç tanımlanmıştır. Etki mekanizmaları farklı olan ekzojen ve endojen ajanlar şunlardır:

(Tablo 1)

Tablo I:İskemi ve reperfüzyon hasarına karşı koruyucu mekanizmalar (35).

İskemi ve Reperfüzyon hasarına karşı koruyucu mekanizmalar	
Serbest radikal temizleyiciler	
Katalaz	Süperoksit ve hidroksil radikalini temizlerler
Süperoksit dismutaz	
Nafazatrom	
Mannitol	Hidroksil radikalini temizlerler
Dimetilüre	
Dimetilsulfoksid	
Histidine	Serbest oksijeni temizler
Serbest radikal üretimini inhibe edenler	
Allopurinol	Ksantin oksidaz inhibitörü
Desferoksamin	Demir şelasyonu
Antioksidanlar	
Vitamin E	Peroksidasyonu durdururlar
Propranol	
Kalsiyum kanal blokerleri	
Kaptopril	Metabolizmayı yavaşlatır
Hipotermi	

Antioksidan enzimler:

Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz,katalazgibi enzimler primer antioksidanlardır.

Serbest radikal toplayıcılar:

Vitamin E, vitamin C, β-karoten, ürik asit,bilirubin, albümin bu gruptandır ve sekonder antioksidanlar olarak bilinir. Bunlar serbest radikalleri yakalayarak oluşabilecek zincir reaksiyonlarını engellerler.

Nötrofil inhibitörleri:

Platelet aktive edici aktivatör (PAF) antagonistleri ve 5-lipooksijenaz inhibitörleri kemotaksisi inhibe ederken, Transforming Growth Faktör β ise nötrofillerin endotele yapışmasını ve adenozin reseptör mekanizması yoluyla aktive nötrofillerden serbest radikal üretimini inhibe eder (36).

Serbest radikal üretimi inhibitörleri:

Allopurinol ve desferroksamin bu gruptandır.

Ekzojen antioksidanlar:

α - tokoferol, propranolol, Ca kanal blokerleri, kaptopril bu grup ajanlardır.

2.5.1 Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit radikalini hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çeviren reaksiyonu katalizleyen antioksidan bir enzimdir (37).

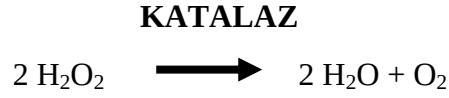


Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda O_2 üretilmesine rağmen hücre içi düzeyi SOD tarafında düşük tutulur.

Bu basamak “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da bilinir. Çünkü süperoksit radikali zincirleme reaksiyonların güçlü bir tetikleyicisidir. Bu sistem sayesinde hücresel kompartmanlardaki O_2 düzeyleri kontrol altında tutulur (38) .

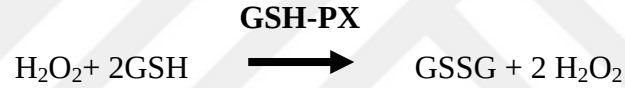
2.5.2 Katalaz (CAT)

Katalaz, peroksizomlarda lokalize ve yapısında 4 “hem” grubu bulunan bir hemoproteindir. Karaciğer ve eritrositlerde en yüksek aktiviteye sahiptir. SOD aracılığı ile oluşan hidrojen peroksit bir radikal olmamasına karşın en reaktif tür olan $HO^{\cdot}$ radikalinin öncüsü olması nedeniyle en fazla oksidatif hasara sebep olur (38). Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalar:



2.5.3 Glutasyon peroksidaz (GSH-px)

Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit ve büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerinin indirgenmesinden sorumludur (38). GSH-px, aşırı hidrojen peroksit varlığında glutasyonun (GSH) okside glutatona (GSSG, glutasyon disülfür) oksidasyonunu katalize ederken, hidrojen peroksiti de suya dönüştürür (38).



2.5.4 Glutasyon redüktaz (GR)

GPx tarafından H_2O_2 ve diğer lipid peroksitlerin indirgenmesi esnasında glutasyon okside glutatona dönüşmektedir. Bu okside halin tekrar redükte GSH'a dönüştürülmesi gereklidir. Çünkü organizmanın glutasyon deposu sınırlıdır (39). GR, NADPH varlığında glutasyon disülfiti (GSSG) tekrar redükte glutatona (GSH) çevirir:



2.5.5 Glutatyon-S-transferaz (GST)

Glutatyon S-transferaz dimerik yapıda olup sitozolde bulunmaktadır. Yabancı maddelerin biyotransformasyonunda rolleri olan GST'ler çeşitli endojen ve eksojen bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu katalize eder(40).



2.5.6 Glutatyon (GSH)

Glutatyon (GSH) karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptittir. GSH hücre içi protein ve lipidlerin fonksiyonlarında önemli bir rol oynar. GSH bu yapıların aerobik ortamda oksidasyonunu önleyen çok önemli bir antioksidandır. Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfidril gruplarını (-SH) redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Glutatyon (GSH) yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve aminoasitlerin membranlardan transportunu da sağlar. Glutatyon (GSH) eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir.

2.5.7.KSANTİN OKSİDAZ

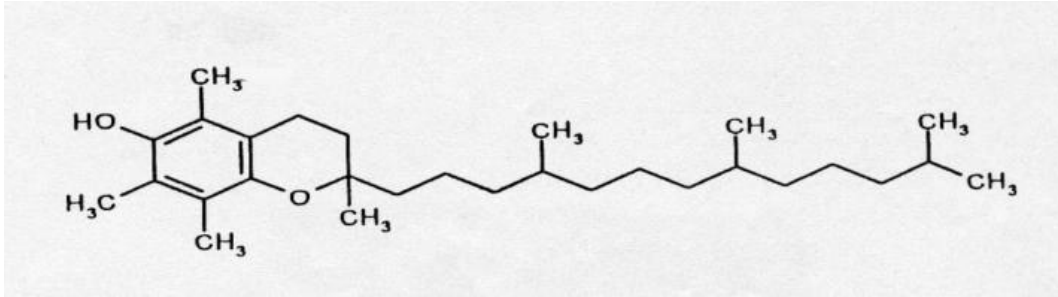
İskemi ve reperfüzyon sırasında reaktif oksijen türlerinin kaynağı ksantin oksidaz/dehidrogenaz enzim sistemidir. Sağlıklı dokularda bu enzim ksantin dehidrogenaz olarak sentezlenir. Enzimin bu formu ksantin oksidasyonu sırasında NAD kullanır. Alternatif olarak enzim ksantin oksidaz formuna dönüşebilir. Bu enzimin değişiminin doku iskemisi sonrası olduğu düşünülmektedir (41).

Ksantin oksidaz süperoksit radikalinin oluşumuna sebep olur. Bu enzim hipoksantin ve ksantin ürik aside çevrilmesini katalizleyen bir flavoproteindir.

Pürin metabolizmasında yer alır. İskemi sırasında ksantin dehidrojenaz ksantin oksidaza dönüştürülür. Ksantin dehidrojenaz substrat olarak nikotinamid adenin dinükleot kullanmasına rağmen ksantin oksidaz oksijen kullanır. Dolayısıyla iskemi sırasında hipoksantin ksantine çevirilemez ve hipoksantin birikir. Reperfüzyonla birlikte hipoksantin ksantin oksidaz enzimi tarafından reaktif oksijen türlerinin çevrilir Artmış ksantin oksidaz aktivitesi nedeniyle reaktif oksijen türlerinin artması çeşitli doku hasarına yol açar (42).

2.6 ANTİOKSİDAN OLARAK E VİTAMİNİ

E vitamininin organizmada yağda çözünen antioksidan bir vitamin olması nedeniyle etiopatogenezinde iskemi ve reperfüzyon olan hastalıklarda; etkisini inceleyen bir çok çalışmaya konu olmuştur (43). Evans ve Bishop tarafından 1922 yılında dişi sıçanların gebeliklerini sürdürebilmeleri için E vitaminine ihtiyaç duydukları bulunmuştur (44). Önceleri X, daha sonra antisterilite vitamini, 1936 yılında buğday tohumundan ekstrakte edildikten sonra ise tokoferol olarak isimlendirilmiştir. Vitamin E'nin lipid peroksidasyonu ve antioksidan özellikleri ise sonradan keşfedildi. (Şekil 3)



Şekil 3: E vitamininin kimyasal yapısı. (45)

E vitamini 4 adet tokoferol (α , β , γ , δ) ve 4 adet tokotrienol (α , β , γ , δ) olmak üzere bir grup bileşikten oluşur. Çalışmalarda en az fazla α - tokoferol kullanılmakla beraber α - tokoferol en aktif ve doğada en fazla bulunan formudur. Yağda çözünen bir vitamin olması nedeniyle vitamin E'nin sindirimi bağırsaklarda olur ve dolaşıma lenfatik dolaşım yoluyla katılır.

E vitamini antioksidan etkinliğini peroksitleri ve oksijen radikallerini nötralize etmesi ile gösterir. Hücrelerde daha çok membranlarda bulunan lipidler kendiliğinden veya oksidan metabolitlerin etkisi sonucu oksitlenebilirler. Böylece lipit peroksidasyonuna veya protein ve yağlara kovalent bağlanarak membran hasarına neden olurlar (46).

Vitamin E zincir kırıcı antioksidan olarak bilinir. E vitamini membranlarda yer alır ve lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonu, vitamin E vasıtasıyla sonlandırılabilir. Birçok çalışma E vitamininin lipid peroksidasyonunun son ürünlerine olan etkisini araştırmaktadır. Glutatyon peroksidaz ile vitamin E, serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. Glutatyon peroksidaz oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken vitamin E peroksitlerin sentezini engeller.

Günlük E vitamini ihtiyacının 10-12 mg olduğu bildirilmiştir. Çeşitli hastalıklarda 50-100 mg'dan 4000mg'a kadar olan tedavi dozları kullanılmaktadır .

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel olmayan etik kurul tarafından onay alındıktan sonra tezin tamamlanmasına yönelik klinik çalışmalara başlandı.

3.1. ÇALIŞMA GRUBUNUN OLUŞTURULMASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği'nde temmuz 2013 – temmuz 2014 tarihleri arasında gonartroz tanısı alan ve total diz artroplastisi yapılan hastalar çalışma grubunu oluşturdu. Çalışmayı kabul eden hastalar araştırma hakkında ayrıntılı bilgilendirildi. Yazılı onayları alındı.

Çalışmaya katılan 51 hasta prospektif ve randomize olarak iki gruba ayrıldı. I/R+E grubu diye adlandırılan gruba operasyondan 3 saat önce 300 IU E vitamini (D-Alpha-tocopherol acetat, Evigen, Aksu Firması İstanbul) intramuskuler olarak uygulandı. I/R grubu olarak adlandırılan gruba ise E vitamini uygulanmadı.

Çalışmaya eş zamanlı bilateral total diz artroplastisi yapılan hastaların ilk yapılan dizleri ve tek taraflı diz artroplastisi yapılan hastalar dahil edildi. Toplamda 26 eş zamanlı bilateral diz artroplastisi ve 25 tek taraflı diz artroplastisi yapılan 51 hasta çalışmaya dahil edildi. Revizyon diz artroplastisi uygulanan hastalar ve periferik damar hastalığı öyküsü olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

55-80 yaş arasında 40 kadın ve 11 erkek olmak üzere toplam 51 hastanın demografik verileri, operasyon ve turnike süreleri kaydedildi. Hastalara premedikasyon uygulanmadı. Hastalardan anestezi indüksiyonu öncesi(T₀), turnike açılmadan 1 dakika önce(T₁), turnike açıldıktan 20 dakika sonra(T₂) olmak üzere 3 kez EDTA'lı tüplere kan örnekleri alındı. Entübasyonu takiben

cerrahi saha steril örtüldükten sonra opere edilecek ekstremiteler eleve edilerek Esmarch bandajı kullanılmadan , 350 mmHg basınçta turnike uygulandı

3.2. ANESTEZİ PROSEDÜRÜ

Tüm hastalara standart anestezi tekniği uygulandı. Hastalara premedikasyon yapılmadı. Ameliyat odasına alındıktan sonra sistolik, diastolik arter basınçları ve ortalama arter basınçları kaydedildi. Periferik O₂ saturasyonu, kalp atım hızları monitörize edildi.

Anestezi indüksiyonunda 2 mg/kg propofol, 0.6 mg/kg rokuronyum, 2 mcg/kg fentanil kullanıldı. Takiben endotrakel entubasyon uygulandı. Hastalara volüm kontrollü ventilasyon end tidal CO₂ düzeyi 30-35 mm/Hg olacak şekilde yapıldı. Anestezi idamesinde 2lt/dk hava ve 2lt/dk oksijen end tidal sevofluran %2 olacak şekilde uygulandı. Hiçbir hastaya çalışma amacıyla kan örneklerinin alınması tamamlanmadan kan transfüzyonu yapılmadı

3.3. LABORATUVAR ÇALIŞMALARI

3.2.1. Eritrosit Hemolizatının Hazırlanması

EDTA'lı tüplere toplanan kan 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üstte kalan plazma kısmı ayrılarak çalışılncaya kadar -20 °C'de saklandı. Ardından eritrositler % 0.9'luk NaCl solüsyonu ile 3 defa yıkandı. Her yıkama sonrası 3000 rpm'de 10'ar dakika santrifüj edildi. Her santrifüj sonrası süpernatant aspire edilerek atıldı. Hazırlanan eritrosit paketi çalışılncaya kadar -20 °C'de saklandı.

3.2.2. Hemolizat hemoglobin tayini

Prensip: Drapkin çözeltisinde bulunan ferrisiyanür Hb'deki +2 değerlikli demiri (ferro= $\text{Fe}+2$) +3 değerlikli demir (Ferrik= $\text{Fe}+3$)'e çevirerek methemoglobine dönüştürür. Sonra potasyumsiyaniür ile birleşerek stabil bir molekül olan siyanmethemoglobin meydana gelir. Siyanmethemoglobinin 540 nm'de ölçülen absorbansı hemoglobin ile doğru orantılıdır.

Drapkin Reaktifi:

Sodyum Bikarbonat (NaHCO_3)	% 1
Potasyum Ferrisiyanür ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$)	% 0.2
Potasyum Siyaniür (KCN)	% 0,05
Distile Su	200 ml
Buzlu su	1000 ml

Prosedür: Hazırlanan hemolizattan 10 μl alınarak tüpe alındı, üzerine drapkin reaktifinden 3ml eklendi ve tüpler iyice çalkalanıp 15 dk oda ısısında bekletildi. Standart olarak kontrol kanı, kör olarak drapkin çözeltisi kullanılarak tüm örnekler 540 nm dalga boyunda ölçüldü.

3.2.3. Eritrosit Total GSH Ölçümü

Eritrosit Total GSH ölçümü Cayman marka Glutathione Assay Kiti ile yapıldı (Cayman Chemical Company, Michigan, USA). Absorbans okuması Trinity Biotech Captia Reader cihazında yapıldı (Trinity Biotech PLC, Bray CO. Wicklow, IRELAND). Sonuçlar ölçülen hemoglobin miktarlarına oranlanarak nmol/g Hgb olarak verildi.

3.2.4. Plazma TBARS Ölçümü

Plazma TBARS ölçümü Cayman marka TBARS Assay Kiti ile yapıldı (Cayman Chemical Company, Michigan, USA). Absorbans okuması Trinity Biotech Captia Reader cihazında yapıldı (Trinity Biotech PLC, Bray CO. Wicklow, IRELAND). Sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ olarak verildi.

3.2.5. Plazma NOx Ölçümü

Plazma Nitrat ve Nitrit ölçümü Cayman marka Nitrate/Nitrite Colorimetric Assay Kiti ile yapıldı (Cayman Chemical Company, Michigan, USA). Absorbans okuması Trinity Biotech Captia Reader cihazında yapıldı (Trinity Biotech PLC, Bray CO. Wicklow, IRELAND). Sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ olarak verildi.

Nitrik oksit ölçümünü nitrit ve nitrat toplamına göre yapılmıştır.

3.2.6. Plazma Ksantin Oksidaz Ölçümü

Plazma Ksantin Oksidaz ölçümü Cusabio marka Human Xanthine Oxidase (XOD) ELISA Kiti ile yapıldı (Whan Hi-tech Medical Devices Park, Wuhan, Hubei Province, P.R.China). Absorbans okuması Trinity Biotech Captia Reader cihazında yapıldı (Trinity Biotech PLC, Bray CO. Wicklow, IRELAND). Sonuçlar ng/ml olarak verildi.

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bütün veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. Bilimsel değerlerin aritmetik ortalama değerleri arasındaki farklılıklar, SPSS for Windows 15.0 paket bilgisayar programı kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Gruplar arası fark olup olmadığı Mann-Whitney U testi istatistiksel analizi ile değerlendirildi. Tüm istatistiksel karşılaştırmalarda anlamlılık düzeyi $p<0.05$ den küçük olanlar anlamlı olarak kabul edildi.

Hastalarda bakılan parametreler gruplar arasındaki farklılığını değerlendirmek için Kruskal–Wallis varyans analizi kullanıldı. Kruskal-Wallis testi önemli farklılaşma gösterirse, hangi grubun diğerinden farklı olduğu Mann-Whitney U testi ile araştırıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0.05$ kabul edildi.

IV. BULGULAR

Çalışmaya alınan iki grup arasında boy, yaş, ve turnike süreleri bakımından istatistiksel fark bulunmamıştır. Hastaların kiloları bakımından her iki grup arasında istatistiksel fark mevcuttur.(Tablo 2)

Tablo II :Grupların demografik özellikleri

	GRUP I/R	GRUP I/R+E	p
Cinsiyet K/E	20/4	20/7	
Yaş	65,9±7,5	64,0±7,3	0,351
Kilo	85,7±10,7	77,2±7,1	0,002
Boy	159,8±7,9	160,5±8,5	0,745
Hipertansiyon	9	8	
Diyabetes Mellitus	3	4	
Turnike Süresi	63,2±19,3	54,6±13	0,067

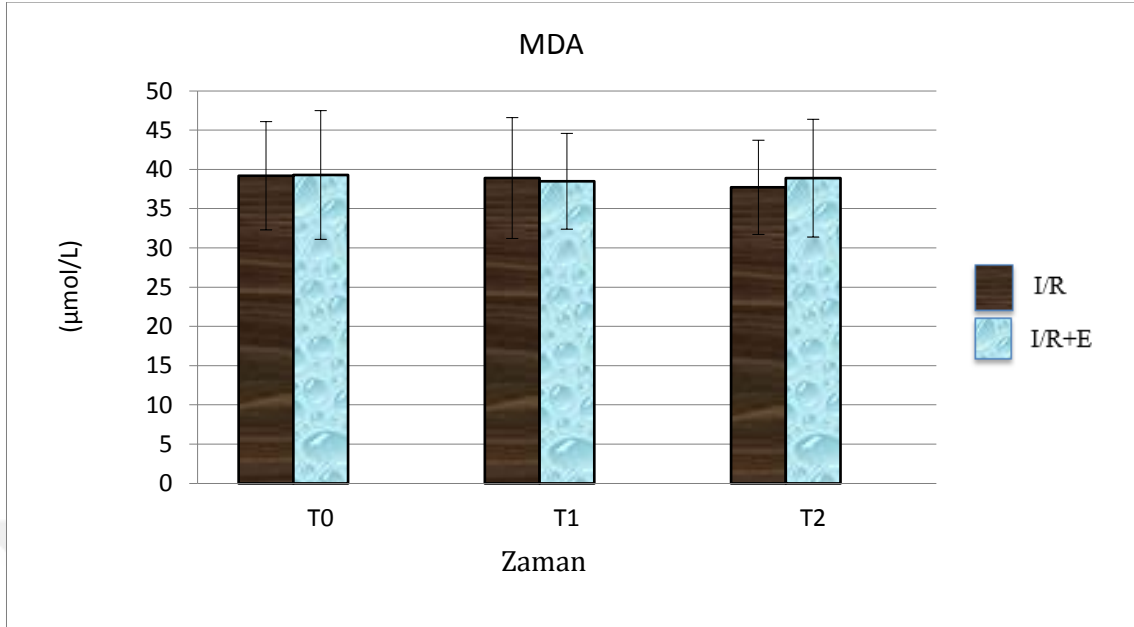
Veriler ortalama±standart sapma veya hasta sayısı olarak verildi

GRUP I/R: E vitamini verilmeyen grup, GRUP I/R+E: E vitamini verilen grup

Tablo III: MDA sonuçları

MDA $\mu\text{mol/L}$	T0	T1	T2
GRUP I/R	39,20±6,9	38,91±7,7	37,73±6
GRUP I/R+E	39,3±8,2	38,5±6,1	38,9±7,5

Her iki grubun kendi içinde; turnike uygulanmadan önce, turnike indirilmeden 1 dakika önce ve turnike indirildikten 20 dakika sonra alınan kanlardaki MDA değerlerinde istatistiksel fark bulunmamıştır.



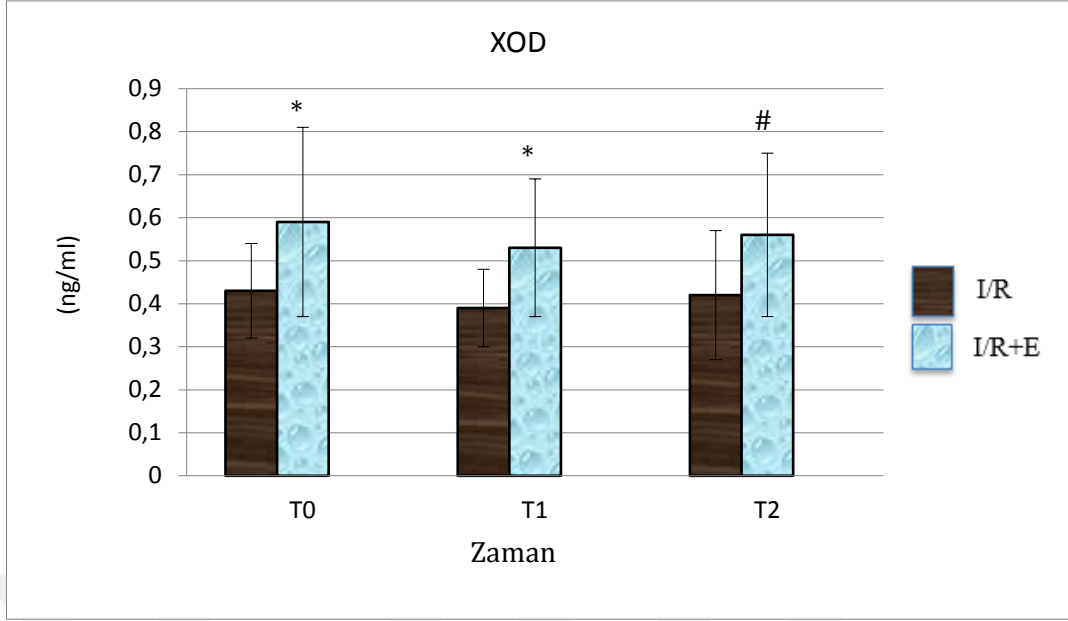
Şekil 4:Grupların MDA değerlerinin zaman değişkenine göre karşılaştırılması

E vitamini verilen I/R+E grubunun değerleri ile verilmeyen I/R grubun değerleri kıyaslandığında turnike öncesi(T₀), turnike indirilmeden 1 dakika önce(T₁) alınan ve turnike indirildikten 20 dakika sonra(T₂) alınan kanlardaki MDA değerleri arasında istatistiksel fark bulunmamıştır.

Tablo IV:Grupların XOD değerleri

XOD ng/ml	T0	T1	T2
GRUP I/R	0,43±,11	0,39±,09	0,42±,15
GRUP I/R+E	0,59±,22	0,53±,16	0,56±,19

Her iki grup kendi içinde değerlendirildiğinde turnike öncesi,turnike indirilmeden 1 dakika önce ve turnike indirildikten 20 dakika sonra alınan kanlardaki XOD değerlerinde istatistiksel fark bulunmamıştır.



Şekil 5: Grupların XOD değerlerinin zaman değişkenine göre karşılaştırılması

I/R grubu ile kıyaslandığında $p<0,001$

I/R grubu ile kıyaslandığında $p<0,05$

E vitamini verilen I/R+E grubunun değerleri ile verilmeyen I/R grubun değerleri kıyaslandığında turnike öncesi (T_0), turnike indirilmeden 1 dakika önce(T_1) alınan ve turnike indirildikten 20 dakika(T_2) sonra alınan kanlardaki XOD değerleri açısından istatistiksel fark bulunmuştur.

I/R+E grubunda turnike öncesi (T_0) zaman diliminde alınan XOD değeri ile I/R grubunda alınan XOD değerleri kıyaslandığında I/R+E grubunda XOD değerinde anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. ($p<0,001$)

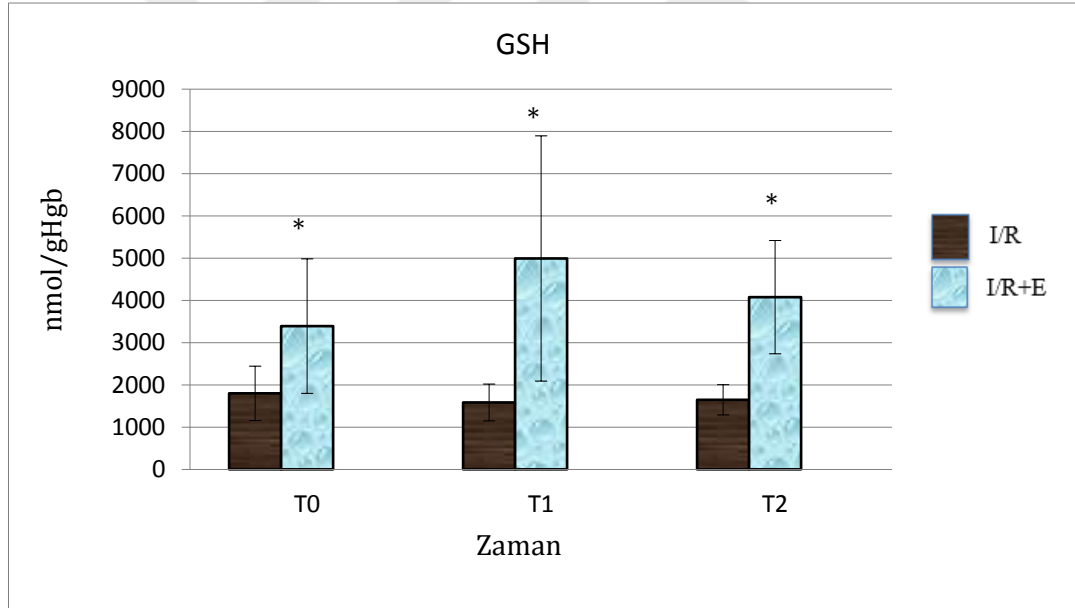
I/R+E grubunda turnike indirilmeden 1 dakika önce(T_1) alınan XOD değeri ile I/R grubunda alınan turnike indirilmeden 1 dakika önce(T_1) XOD değerleri kıyaslandığında I/R+E grubunda artmış olduğu görülmüştür. ($p<0,001$)

I/R+E grubunda turnike indirildikten 20 dakika(T_2) sonraki XOD değeri ile I/R grubunda turnike indirildikten 20 dakika(T_2) sonraki XOD değerleri kıyaslandığında I/R+E grubunda artmış olduğu görülmüştür. ($p<0,05$)

Tablo V:Grupların GSH değerleri

GSH nmol/gHgb	T0	T1	T2
GRUP I/R	1798,9±644	1582,8±436,7	1645,2±358,4
GRUP I/R+E	3389,9±1591,8	4991,6±2902,2	4075,7±1341,6

Her iki grup kendi içinde değerlendirildiğinde turnike öncesi,turnike indirilmeden 1 dakika önce ve turnike indirildikten 20 dakika sonra alınan kanlardaki GSH değerlerinde istatistiksel fark bulunmamıştır.



Şekil 6: Gruplar arası GSH değerlerinin zaman değişkenine göre karşılaştırılması
I/R grubu ile kıyaslandığında $p<0,001$

I/R+E grubunda turnike öncesi (T_0) alınan GSH değeri ile I/R grubunda turnike öncesi (T_0) alınan GSH değerleri kıyaslandığında I/R+E grubunda artmış olduğu görülmüştür. ($p<0,001$)

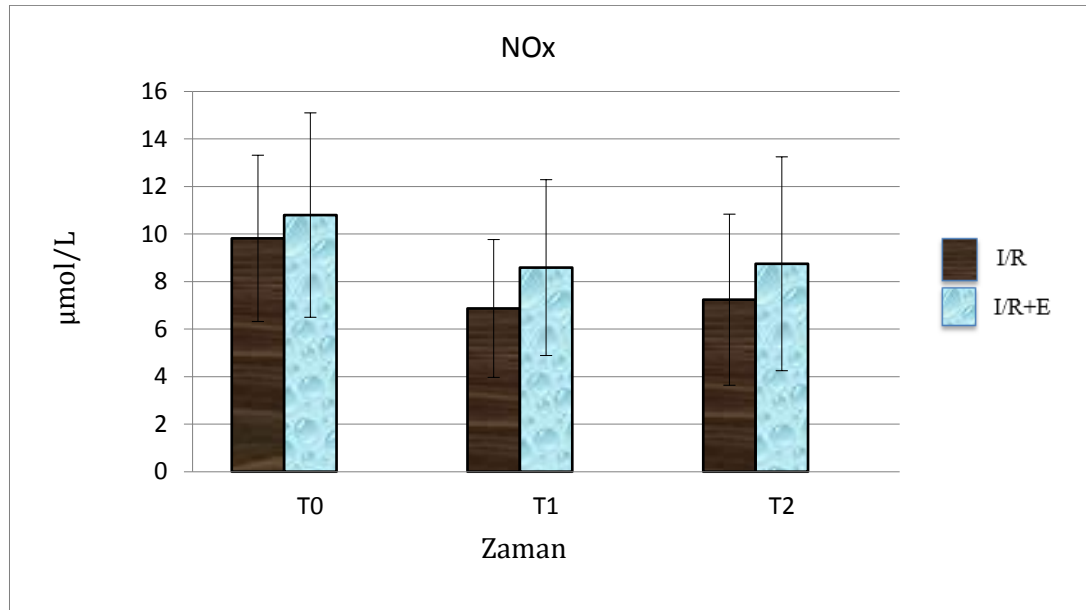
I/R+E grubunda turnike indirilmeden 1 dakika önce(T₁) alınan GSH değeri ile I/R grubunda turnike indirilmeden 1 dakika önce(T₁) alınan GSH değerleri kıyaslandığında I/R+E grubunda artmış olduğu görülmüştür. (p<0,001)

I/R+E grubunda turnike indirildikten 20 dakika(T₂) sonraki GSH değeri ile I/R grubunda turnike indirildikten 20 dakika (T₂) sonraki GSH değerleri kıyaslandığında I/R+E grubunda artmış olduğu görülmüştür. (p<0,001)

Tablo VI: Grupların NO_x değerleri

NO _x μMOL/L	T0	T1	T2
GRUP I/R	9,82±3,5	6,87±2,9	7,24±3,6
GRUP I/R+E	10,8±4,3	8,59±3,7	8,75±4,5

Her iki grubun kendi içinde turnike öncesi,turnike indirilmeden 1 dakika önce ve turnike indirildikten 20 dakika sonra alınan kanlardaki nitrit ve nitrat toplam değerlerinde istatistiksel olarak fark saptanmadı.



Şekil 7: Grupların NO_x değerlerinin zaman değişkenine göre karşılaştırılması

E vitamini verilen I/R+E grubunun değerleri ile verilmeyen I/R grubun değerleri kıyaslandığında turnike öncesi(T_0), turnike indirilmeden 1 dakika önce(T_1) alınan ve turnike indirildikten 20 dakika sonra(T_2) alınan kanlardaki NOx arasında istatistiksel fark bulunmamıştır



V.TARTIŞMA

Ortopedik cerrahide sık olarak kullandığımız turnike; ekstremitede iskemiye yol açar. Turnikenin indirilmesini takiben klinik olarak önemli bir olay olan reperfüzyon hasarı meydana gelir. İskemik dokuların oksijenden zengin kan ile karşılaşması sonrası iskemi-reperfüzyon hasarı ortaya çıkmaktadır.

İskemi ve reperfüzyon hasarı; kompleman aktivasyonu, lökosit-hücre endotel adezyonu, transendotelyal lökosit migrasyonu ve artmış mikrovasküler geçirgenlik gibi kompleks olaylar sonucu meydana gelir (47).

Reperfüzyon hasarında serbest oksijen radikalleri büyük rol oynar. Reaktif oksijen türleri, hidroksil radikali OH^- , süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve nitrik oksidin aşırı artması lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler üzerinde yıkıcı etki yapar.

Organizmanın hücre hasarından korunmak için antioksidan savunma sistemleri mevcuttur. Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi enzimler dolaylı olarak serbest radikal temizleyici işlevi görürler. Nitrik oksit'in hem sitotoksik hem de sitoprotektif etkileri bulunmaktadır (48).

Turnike uygulaması iskemi ve reperfüzyon modeli olarak iyi bir uygulamadır. Fakat iskemi ve reperfüzyon parametrelerinde değişikliğe sebep olan birçok faktör vardır. Uygulanan anestezi tekniği bu parametreler arasındadır. Emilie Mas ve arkadaşları yaptıkları çalışmada diz artroplastisi uygulanan hastaları spinal anestezi ve genel anestezi olarak iki grupta incelemiştir. Sonuçta genel anestezinin turnike kaynaklı iskemi ve reperfüzyon hasarını artırdığını bulmuşlardır (49). Biz de çalışmamızda anestezi yönteminin sonuçları etkilememesi için hastalarımıza standart bir anestezi tekniği uyguladık.

Literatür taraması sonrası iskemi ve reperfüzyon modeli ile ilgili birçok klinik çalışma görülebilir. Bu çalışmalarda hasta grupları oluşturulurken yandaş hastalığı olmayan hastalar dahil edilmiştir. Biz bu çalışmamızda ortopedide sık ve başarı ile uygulanan diz artroplastisi hasta grubunu seçtik ve hasta gruplarımızı benzer tutmaya çalıştık. Neticede klinik olarak diz artroplastisi uygulanan

hastaların ileri yaşta olduğu düşünülürse diabetes mellitus ve hipertansiyon gibi yandaş hastalıklarının olmaması mümkün değildir. Bo Westman ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada diz artroplastisinin iskelet kasında iskemi ve reperfüzyon hasarını göstermede iyi bir klinik model olduğunu savunmuşlardır (50).

Kullanılan genel anestezi prosedürü değiştirilerek turnikenin yol açtığı iskemi ve reperfüzyon hasarını azaltmayı hedefleyen bir çalışmada Özkan ve arkadaşları spinal anestezi ve spinal anestezi ile birlikte propofol ile sedasyon yapılan hasta gruplarını karşılaştırmışlar (51). Bu çalışmada venöz kandan aldığı örneklerde MDA,SOD ve total antioksidan kapasite gibi parametreler değerlendirilmişler. Propofol alfa tokoferol yapısında bir anestezik bir ajan olup anestezi indüksiyonunda ve idamesinde kullanılmaktadır. Özkan ve arkadaşları spinal anestezi ile birlikte propofol ile sedasyon yapılan hastaların iskemi ve reperfüzyon hasarına daha az maruz kaldığını bulmuşlardır.

Turnike iskemisini önlemek amacıyla immünosupresifler, kortikosteroidler ve çeşitli antioksidanlar, hem klinik hem de deneysel çalışmalarda kullanılmıştır. Kazuichiro Hori ve arkadaşları yaptıkları deneysel bir çalışmada edavaronun lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini bu sayede turnike iskemi ve reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğunu göstermişlerdir.(52) Yine bir başka çalışmada Ozyurt ve arkadaşları antioksidan olarak caffeic acid phenethyl esterin reperfüzyon hasarından koruyuculuğunu araştırmışlar.Ratların gastrocnemius kasında ksantin oksidaz,myeloperoksidaz gibi enzim aktivitelerini değerlendirmişler. Sonuçta caffeic acid phenethyl esterin iskelet kasını reperfüzyon hasarından koruduğunu göstermişlerdir (53).

Biz çalışmamızda E vitamininin koruyucu etkinliği olup olmadığını araştırmak amacıyla hastalardan pre-operatif, turnike açılmadan 1 dakika önce ve turnike açıldıktan 20 dakika sonra olmak üzere 3 adet antekubital ven kan örneği alarak inceleme yaptık. Kanda lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan malondealdehidi, antioksidan bir madde olan glutatyonu, prooksidan bir enzim olan ksantin oksidaz ve nitrik oksit parametrelerini inceledik.

MDA değerleri hem periferik kandan, hem de kas dokusundan alınan örneklerde incelenebilmektedir. MDA lipid peroksidasyonun son ürünlerinden biri olup, lipid peroksidasyonunu göstermede birçok iskemi ve reperfüzyon çalışmalarında kullanılmıştır.

NL Halladin ve arkadaşları sağlıklı bireylerde 20 dakika iskemi oluştururarak yaptıkları çalışmada kas biyopsisi ve kan örneklerindeki MDA düzeylerinde reperfüzyonla istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptamamışlardır. Sonuç olarak iskemiye biyokimyasal olarak gösterebilmek için iskemi süresinin en az 30-35 dakika olması gerektiğini vurgulamışlardır (54). D.Özkan ve arkadaşları yaptıkları bir diğer çalışmada MDA değerlerindeki artışı turnike açılmasından 2 saat sonra aldıkları kan değerlerinde göstermişlerdir (51).

Gian Paolo Novelli ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada elektif aort anevrizması onarımı yapılacak 12 hasta iki gruba ayrılmış. Bir gruba cerrahi öncesi 1 hafta boyunca oral E vitamini verilmiş ve E vitamini verilmeyen kontrol grubu ile karşılaştırılmış. Bu iki grupta iskemi ve reperfüzyon sırasında kuadriseps kasından alınan kas biyopsisinde MDA seviyeleri incelenmiş. Sonuç olarak her iki grupta da iskemi periyodları sırasında MDA değerlerinde anlamlı bir artış saptanmazken, reperfüzyon periyotlarında istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu gösterilmiştir (55).

Bizim çalışmamızda ise her iki grupta hem iskemi hem de reperfüzyon periyotlarında anlamlı artış saptanmadı. Bunun sebebi reperfüzyon hasarını göstermek amacıyla venöz kanı erken almamız olabilir. Benzer bir çalışmada Koşucu ve arkadaşları oluşturdukları iskemi reperfüzyon modelinde; kan örneklerinde MDA düzeylerindeki istatistiksel olarak anlamlı artışı turnike açılmasından 30 dakika sonra göstermişlerdir (56). MDA değerlerindeki artışı göstermek amacıyla alınacak venöz kanın ileride yapılacak çalışmalar için turnike açılmasından en az 30 dakika sonra alınması gerektiğini düşünmekteyiz.

Gürbüz ve arkadaşları (57) E vitamini kullanımının turnike iskemi ve reperfüzyon hasarına etkisini araştırdıkları bir çalışmada çalışma öncesi 7 gün boyunca tavşanlara günde tek doz 100 mg/kg dozda intramusküler α -D-tokoferol asetat uygulamışlardır. Turnike uygulamasının sonlandırılmasını takiben 60.dakikada hem MDA ölçümü , hem de ultrastrüktürel inceleme için periferik sinir değerlendirilmiştir. Turnike uygulaması sonrası deney grubunda malondialdehit düzeylerinin istatistiki açıdan anlamlı olarak düştüğünü gözlemlemişlerdir. Bu bulgularla; serbest oksijen radikali varlığının,dokuda yıkıma sebep olacağını ; alfa-d tokoferol kullanımının ise, serbest oksijen radikallerinin lipid peroksidasyonunu engelleyerek, dokuların yıkımına engel olabileceğini ve turnike uygulaması düşünülen olgularda, cerrahi öncesi alfa-d tokoferol kullanılmasıyla dokuların reperfüzyon travmasından korunabileceği savunmuşlardır

Çalışmamızda E vitamini uygulanmayan gruba göre, E vitamini uygulanan grupta her üç zaman diliminde alınan GSH değerlerinde istatistiksel olarak ($p<0.001$) anlamlı artış olduğu gözlemlendi. Osmanoğlu ve arkadaşlarının (58) yaptıkları çalışmada da GSH değerleri yönünden benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmamızda GSH düzeylerinin E vitamini verilen grupta yüksek çıkmasının. E vitaminin GSH değerlerini arttırmasına bağlamaktayız. GSH serbest radikalleri süpürücü etki gösterir ve serbset radikallerin verdiği zararları ortadan kaldırır. E vitaminin eritrosit içerisindeki GSH rezervlerini artırırarak antioksidan etkili olduğunu göstermiştir.

Hücrel iskemi sonucu ATP gibi bileşikler parçalanması sonrası hipoksantin oluşur. Normal fizyolojik koşullarda hipoksantin, ksantin dehidrojenaz enzimi tarafından ksantine oksitlenmektedir. Bununla birlikte iskemi sırasında ksantin dehidrojenaz ksantin oksidaza dönüştürülür. Ksantin dehidrojenaz substrat olarak nikotinamid adenin dinükleot kullanmasına rağmen ksantin oksidaz oksijen kullanır. Dolayısıyla iskemi sırasında hipoksantin ksantine

çevirilemez ve hipoksantin birikir. Reperfüzyonla birlikte hipoksantin ksantin oksidaz enzimi tarafından reaktif oksijen türlerine çevrilir (59).

Genel itibariyle ksantin oksidaz aktivitesi oksidatif stresin arttığı durumlarda artmış bulunur. Ana Maria Pandolfo Feoli ve arkadaşları metabolik sendromun oksidatif stres ile ilişkili olduğunu göstermek istediği çalışmasında. Metabolik sendromu olanların; kontrol grubuna göre artmış ksantin oksidaz aktivitesi olduğunu göstermişlerdir (60).

Field ve arkadaşları ilk kez insanlarda ksantin oksidaz aktivitesi ile iskemi ve reperfüzyon arasında bir korelasyon olduğunu bulmuşlardır. (61) Turnike süresi ile ksantin oksidaz aktivitesi arasında bir ilişki olduğunu göstermişlerdir.

Biz çalışmamızda ksantin oksidaz aktivitesinin I/R+E grubunda ; I/R grubuna göre her üç zaman diliminde artmış olduğunu gördük. Çalışmada serum XOD enziminin aktivitesi değil protein olarak miktarı ölçülmüştür. E vitamini verilmesi XOD enzim miktarını artırmıştır. Ancak oksidan hasarın bir göstergesi olan MDA düzeyinde bir artışın gösterilmemesi bu enzimin aktivitesinin artmamış olabileceğini düşündürmektedir. E vitamini XOD miktarını artırsa da enzimi aktif hale getiren farklı faktörlerin olabileceği kanaatindeyiz.

Serbest oksijen radikali olan NO'nun fazla üretimi sonucunda; NO molekülünün direkt toksik etkisi ile veya süperoksid radikali ile reaksiyona girmesi sonucu peroksinitrit oluşur. Peroksinitrit, nitrik oksit toksisitesinin başlıca sorumlusudur (62). Peroksinitritin proteinlere doğrudan zararlı etkileri vardır ve azot dioksit (NO_2), hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$), nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşür. Peroksinitrit, nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) oluşturmak üzere metabolize edilir. NO biyolojik sistemlerde yarı ömrü plazmada tespit edilemeyecek kadar çok kısadır. Bu yüzden NO radikalının stabil son ürünleri olan nitrit ve nitratın plazma düzeylerine bakılarak değerlendirilebilir. Plazma gibi çoğu vücut sıvısında nitritin çoğu nitrate dönüşmüştür.

Maliniski ve arkadaşları orta serbral arteri klempleyerek yaptıkları iskemi ve reperfüzyon modelinde plazma NO değerlerinin klempleme sonrası arttığı, 30-85 dakika sonra tekrar düştüğünü reperfüzyonu takiben tekrar yükseldiği göstermişlerdir (63). Masayoshi Yagi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada plazma NO değerleri iskemi ve reperfüzyon modelinde istatistiksel olarak belirgin artış tespit edilememiştir (64).

Bizim yaptığımız çalışmada NO değerlerinde istatistiksel olarak bir artış tespit edemedik. Masayoshi Yagi ve arkadaşlarının çalışmalarında önerdiği gibi daha uzun iskemi ve reperfüzyon periyotlarında NO istatistiksel olarak bir artış tespit edilebilir.

NO iskemi ve reperfüzyon hasarında hücreyi koruyucu mu toksik mi olduğu konusunda bir görüş ayrılığı vardır. NO iskemik dokulardaki mekanizması çok karmaşıktır. Bazı mekanizmlarla NO hasarı azaltıldığını düşünürken bazı mekanizmalarla hasarın arttığını düşünebiliriz.

VI. SONUÇ

Yaptığımız bu tez çalışmasında E vitaminin GSH düzeylerinin artırdığı ve antioksidan etkinliğin arttığını gösterdik. Ortopedi’de sıkça kullanılan turnikenin komplikasyonlarından E vitamini pre-op profilaksisi sayesinde korunabilir. Aksi takdirde özellikle ameliyat sonrasında oluşan parestezi ve hipoestezi gibi sorunlar yapılan cerrahinin başarısını gölgeleyebilir.

E vitaminin antioksidan etkinliği bilinsede; yüksek dozlarda alınan E vitamini insan için antioksidan yerine toksik olarak etki göstermektedir. Bizde tek doz E intramuskuler E vitamini uygulamasını tercih ettik ileride yapılacak çalışmalar için E vitaminin oral olarak turnike kullanılacak operasyon öncesi 1 hafta süreyle kullanılması planlanabilir.

VII. ÖZET

Amaç:

Çalışma total diz artroplastisi sırasında turnikeye bağlı oluşan iskemi ve reperfüzyon hasarlarını önlemede intramusküler E vitamini uygulamasının etkisi olup olmadığını göstermek amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem:

Çalışmaya operasyon sırasında turnike kullanılan elektif diz artroplastisi yapılacak 51 hasta dahil edildi. Hastalar iki gruba ayrıldı. I/R+E grubuna E vitamini verildi. I/R grubuna E vitamini verilmedi. Demografik verileri, operasyon ve turnike süreleri kaydedildi. Hastalardan anestezi induksiyonu öncesi(T₀), turnike açılmadan 1 dakika önce(T₁), turnike açıldıktan 20 dakika sonra(T₂) olmak üzere 3 kez EDTA'lı tüplere venöz kan örnekleri alındı. Alınan bu kan örneklerde lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan malondealdehidi, antioksidan bir madde olan glutatyonu, prooksidan bir enzim olan ksantin oksidaz ve nitrik oksit gibi parametreler incelendi.

Bulgular:

I/R+E grubu ile I/R grubu kıyaslandığında turnike öncesi (T₀), turnike indirilmeden 1 dakika önce(T₁) alınan ve turnike indirildikten 20 dakika(T₂) sonra alınan kanlardaki XOD, GSH değerleri açısından fark bulunmuştur. I/R+E grubunda GSH ve XOD değerlerinin her üç zaman diliminde artmış olduğu görüldü. Diğer parametrelerde anlamlı fark saptanmadı.

Sonuçlar:

Yaptığımız bu çalışmada E vitaminin GSH düzeylerinin artırdığı ve antioksidan etkinliğin arttığını gösterdik. Turnikenin komplikasyonları E vitamini kullanılarak azaltılabilir.

VII. SUMMARY

Purpose:

This study was performed to investigate whether the intramuscular injection of vitamin E is effective or not in tourniquet-induced ischemia and reperfusion injury during total knee arthroplasty

Methods:

51 patients undergoing elective total knee replacement surgery with tourniquet were studied. Patients divided into two groups. Vitamin E was administered to group I/R+E. Demographic data, operation and tourniquet time was recorded. Blood samples were taken three times in EDTA tubes which include before induction of anesthesia (T0), 1 minute before tourniquet deflation (T1) and 20 minutes after tourniquet deflation(T2). We analyzed malondialdehyde which was a product of the lipid peroxidation, the glutathione which was an antioxidant substance, nitric oxide and xanthine oxidase in these blood samples.

Results:

We found statistical differences between I/R group and I/R+E group on XOD and GSH levels before induction of anesthesia (T0), 1 minute before tourniquet deflation (T1) and 20 minutes after tourniquet deflation(T2). XOD and GSH levels were significantly higher in I/R+E group at all of the time periods. There were no significant differences in other parameters.

Conclusion

In this study we showed that vitamin E increased levels of GSH and increased antioxidant activity. We can minimize complications of tourniquet by using vitamin E.

VIII. KAYNAKLAR

1. Kurtz S, Ong K, Lau E, Mowat F, and Halpern M. Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 2007;89(4):780-5.
2. Noordin S, McEwen JA, Kragh JF, Jr., Eisen A, and Masri BA. Surgical tourniquets in orthopaedics. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 2009;91(12):2958-67.
3. Odinson A, and Finsen V. Tourniquet use and its complications in Norway. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 2006;88(8):1090-2.
4. Kam PC, Kavanagh R, and Yoong FF. The arterial tourniquet: pathophysiological consequences and anaesthetic implications. *Anaesthesia*. 2001;56(6):534-45.
5. Klenerman L. The tourniquet in surgery. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 1962;44-B(937-43).
6. L VdS. Complications of the arterial tourniquet. *South Afr J Anaesth Analg*. 2012.
7. Fitzgibbons PG, Digiovanni C, Hares S, and Akelman E. Safe tourniquet use: a review of the evidence. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*. 2012;20(5):310-9.
8. Crenshaw AG, Hargens AR, Gershuni DH, and Rydevik B. Wide tourniquet cuffs more effective at lower inflation pressures. *Acta orthopaedica Scandinavica*. 1988;59(4):447-51.
9. Maurer NH, Voegeli PT, Jr., and Sorkin BS. Non-cardiac circulatory overload secondary to pneumatic thigh tourniquets. *Journal of the American Podiatry Association*. 1983;73(11):589-92.
10. Aglietti P, Baldini A, Vena LM, Abbate R, Fedi S, and Falciani M. Effect of tourniquet use on activation of coagulation in total knee replacement. *Clinical orthopaedics and related research*. 2000;371(1):169-77.
11. Kohro S, Yamakage M, Arakawa J, Kotaki M, Omote T, and Namiki A. Surgical/tourniquet pain accelerates blood coagulability but not fibrinolysis. *British journal of anaesthesia*. 1998;80(4):460-3.
12. Yoshida WB, Thomazini IA, Carvalho I, Lastoria S, Curi PR, and Maffei FH. Platelet activation following application of an Esmarch bandage and tourniquet in rabbits. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica [et al]*. 1989;22(9):1091-3.
13. Zhang W, Li N, Chen S, Tan Y, Al-Aidaros M, and Chen L. The effects of a tourniquet used in total knee arthroplasty: a meta-analysis. *Journal of orthopaedic surgery and research*. 2014;9(1):13.
14. Katsumata S, Nagashima M, Kato K, Tachihara A, Wauke K, Saito S, Jin E, Kawanami O, Ogawa R, and Yoshino S. Changes in coagulation-fibrinolysis marker and neutrophil elastase following the use of tourniquet during total knee arthroplasty and the influence of neutrophil elastase on

- thromboembolism. *Acta anaesthesiologica Scandinavica*. 2005;49(4):510-6.
15. Pollard BJ, Lovelock HA, and Jones RM. Fatal pulmonary embolism secondary to limb exsanguination. *Anesthesiology*. 1983;58(4):373-4.
 16. McGrath BJ, Hsia J, Boyd A, Shay P, Graeter J, Conry K, Campbell D, and Naulty JS. Venous embolization after deflation of lower extremity tourniquets. *Anesthesia and analgesia*. 1994;78(2):349-53.
 17. Parmet JL, Horrow JC, Berman AT, Miller F, Pharo G, and Collins L. The incidence of large venous emboli during total knee arthroplasty without pneumatic tourniquet use. *Anesthesia and analgesia*. 1998;87(2):439-44.
 18. Parmet JL, Berman AT, Horrow JC, Harding S, and Rosenberg H. Thromboembolism coincident with tourniquet deflation during total knee arthroplasty. *Lancet*. 1993;341(8852):1057-8.
 19. Fukuda A, Hasegawa M, Kato K, Shi D, Sudo A, and Uchida A. Effect of tourniquet application on deep vein thrombosis after total knee arthroplasty. *Archives of orthopaedic and trauma surgery*. 2007;127(8):671-5.
 20. Sharma JP, and Salhotra R. Tourniquets in orthopedic surgery. *Indian Journal of Orthopaedics*. 2012;46(4):377-83.
 21. Marshall PD, Patil M, and Fairclough JA. Should Esmarch bandages be used for exsanguination in knee arthroscopy and knee replacement surgery? A prospective trial of Esmarch exsanguination versus simple elevation. *Journal of the Royal College of Surgeons of Edinburgh*. 1994;39(3):189-90.
 22. Newman RJ. Metabolic effects of tourniquet ischaemia studied by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 1984;66(3):434-40.
 23. Wakai A, Winter DC, Street JT, and Redmond PH. Pneumatic tourniquets in extremity surgery. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*. 2001;9(5):345-51.
 24. Rush JH, Vidovich JD, and Johnson MA. Arterial complications of total knee replacement. The Australian experience. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 1987;69(3):400-2.
 25. Kumar SN, Chapman JA, and Rawlins I. Vascular injuries in total knee arthroplasty. A review of the problem with special reference to the possible effects of the tourniquet. *The Journal of arthroplasty*. 1998;13(2):211-6.
 26. Clarke MT, Longstaff L, Edwards D, and Rushton N. Tourniquet-induced wound hypoxia after total knee replacement. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 2001;83(1):40-4.
 27. Olivecrona C, Tidermark J, Hamberg P, Ponzer S, and Cederfjall C. Skin protection underneath the pneumatic tourniquet during total knee arthroplasty: a randomized controlled trial of 92 patients. *Acta orthopaedica*. 2006;77(3):519-23.
 28. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *The British journal of surgery*. 1994;81(5):637-47.

29. Mustoe T. Understanding chronic wounds: a unifying hypothesis on their pathogenesis and implications for therapy. *American journal of surgery*. 2004;187(5A):65S-70S.
30. Kaminski KA, Bonda TA, Korecki J, and Musial WJ. Oxidative stress and neutrophil activation--the two keystones of ischemia/reperfusion injury. *International journal of cardiology*. 2002;86(1):41-59.
31. Halliwell B, and Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in enzymology*. 1990;186(1-85).
32. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *The American journal of physiology*. 1988;255(6 Pt 2):H1269-75.
33. Arnhold J. Properties, functions, and secretion of human myeloperoxidase. *Biochemistry Biokhimiia*. 2004;69(1):4-9.
34. Korthuis RJ, and Granger DN. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. *Clinical cardiology*. 1993;16(4 Suppl 1):I19-26.
35. Maxwell SR, and Lip GY. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *International journal of cardiology*. 1997;58(2):95-117.
36. Garcia-Villalon AL, Amezcua YM, Monge L, Fernandez N, Salcedo A, and Dieguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascular pharmacology*. 2008;48(2-3):109-14.
37. Fridovich I. Superoxide radical: an endogenous toxicant. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 1983;23(239-57).
38. Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, and Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clinical chemistry*. 1991;37(11):1932-7.
39. Karihtala P, and Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 2007;115(2):81-103.
40. Reiter RJ, Melchiorri D, Sewerynek E, Poeggeler B, Barlow-Walden L, Chuang J, Ortiz GG, and Acuna-Castroviejo D. A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Journal of pineal research*. 1995;18(1):1-11.
41. Nishino T. The conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase and the role of the enzyme in reperfusion injury. *Journal of biochemistry*. 1994;116(1):1-6.
42. Ozcan ME, Gulec M, Ozerol E, Polat R, and Akyol O. Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. *International clinical psychopharmacology*. 2004;19(2):89-95.
43. Stampfer MJ, Hennekens CH, Manson JE, Colditz GA, Rosner B, and Willett WC. Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. *The New England journal of medicine*. 1993;328(20):1444-9.
44. Evans HM, and Bishop KS. On the Existence of a Hitherto Unrecognized Dietary Factor Essential for Reproduction. *Science*. 1922;56(1458):650-1.
45. O. K. *Tibbi Farmakoloji*. 2000.

46. Meydani M. Vitamin E. *Lancet*. 1995;345(8943):170-5.
47. Collard CD, and Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology*. 2001;94(6):1133-8.
48. Mates JM. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*. 2000;153(1-3):83-104.
49. Mas E, Barden AE, Corcoran TB, Phillips M, Roberts LJ, 2nd, and Mori TA. Effects of spinal or general anesthesia on F(2)-isoprostanes and isofurans during ischemia/reperfusion of the leg in patients undergoing knee replacement surgery. *Free radical biology & medicine*. 2011;50(9):1171-6.
50. Westman B, Weidenhielm L, Rooyackers O, Fredriksson K, Wernerman J, and Hammarqvist F. Knee replacement surgery as a human clinical model of the effects of ischaemia/reperfusion upon skeletal muscle. *Clinical science*. 2007;113(7):313-8.
51. Ozkan D, Akkaya T, Yalcindag A, Hanci T, Gonen E, Gumus H, and Delibas N. Propofol sedation in total knee replacement : effects on oxidative stress and ischemia-reperfusion damage. *Der Anaesthetist*. 2013;62(7):537-42.
52. Hori K, Tsujii M, Iino T, Satonaka H, Uemura T, Akeda K, Hasegawa M, Uchida A, and Sudo A. Protective effect of edaravone for tourniquet-induced ischemia-reperfusion injury on skeletal muscle in murine hindlimb. *BMC musculoskeletal disorders*. 2013;14(113).
53. Ozyurt H, Ozyurt B, Koca K, and Ozgocmen S. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protects rat skeletal muscle against ischemia-reperfusion-induced oxidative stress. *Vascular pharmacology*. 2007;47(2-3):108-12.
54. Halladin N, Ekelof S, Alamili M, Bendtzen K, Lykkesfeldt J, Rosenberg J, and Gogenur I. Lower limb ischaemia and reperfusion injury in healthy volunteers measured by oxidative and inflammatory biomarkers. *Perfusion*. 2014.
55. Novelli GP, Adembri C, Gandini E, Orlandini SZ, Papucci L, Formigli L, Manneschi LI, Quattrone A, Pratesi C, and Capaccioli S. Vitamin E protects human skeletal muscle from damage during surgical ischemia-reperfusion. *American journal of surgery*. 1997;173(3):206-9.
56. Kosucu M, Coskun I, Eroglu A, Kutanis D, Mentese A, Karahan SC, Baki E, Kerimoglu S, and Topbas M. The effects of spinal, inhalation, and total intravenous anesthetic techniques on ischemia-reperfusion injury in arthroscopic knee surgery. *BioMed research international*. 2014;2014(846570).
57. H. G. Alfa-O tokoferol kullanımının reperfüzyon travmasındaki etkilerinin histakimyasal ve ultrastrüktürel yöntemlerle incelenmesi. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 29, 153-156, 1995).
58. Osmanoğlu ve arkadaşları; *Sevofluran anestezisi altında turnike uygulanan cerrahi artroskopi olgularında e vitamininin nötrofillerde kalsiyum sinyali ve oksidatif stres üzerine etkileri*. DHÖ. Süleyman Demirel Üniversitesi; 2011.
59. Eltzschig HK, and Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *British medical bulletin*. 2004;70(71-86).

60. Feoli AM, Macagnan FE, Piovesan CH, Bodanese LC, and Siqueira IR. Xanthine oxidase activity is associated with risk factors for cardiovascular disease and inflammatory and oxidative status markers in metabolic syndrome: effects of a single exercise session. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2014;2014(587083).
61. Friedl HP, Smith DJ, Till GO, Thomson PD, Louis DS, and Ward PA. Ischemia-reperfusion in humans. Appearance of xanthine oxidase activity. *The American journal of pathology*. 1990;136(3):491-5.
62. Aydin E, Sogut S, Ozyurt H, Ozugurlu F, and Akyol O. Comparison of serum nitric oxide, malondialdehyde levels, and antioxidant enzyme activities in Behcet's disease with and without ocular disease. *Ophthalmic research*. 2004;36(3):177-82.
63. Malinski T, Bailey F, Zhang ZG, and Chopp M. Nitric oxide measured by a porphyrinic microsensor in rat brain after transient middle cerebral artery occlusion. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 1993;13(3):355-8.
64. Yagi M, Adachi J, Tatsuno Y, and Mizuno K. Change in nitric oxide in humans due to application of a pneumatic tourniquet. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 1998;278(1):67-74.