

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**RATLARDA KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON
HASARINA DEKSMEDETOMİDİNİN ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Taylan ŞAHİN
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Zekine BEGEÇ

Malatya 2012

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**RATLARDA KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA
DEKSMEDETOMİDİNİN ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Taylan ŞAHİN
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Zekine BEGEÇ**

Bu tez, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2010/139 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TABLolar DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER VE GRAFİKLER DİZİNİ	V
KISALTMALAR	VI
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İskemi	3
2.2. Reperfüzyon	4
2.3. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Hasarı	5
2.3.1. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Hasarı Oluşum Mekanizmaları	7
2.3.1.1. pH Paradoksu	7
2.3.1.2. Oksidatif Stres	7
2.3.1.3. Nitrik Oksit ve Endotelin	8
2.3.1.4. Sitokinler	8
2.3.1.5. Kemokinler	9
2.3.1.6. Nötrofiller ve Adezyon Molekülleri	9
2.3.1.7. Hem Oksijenaz (HO) Sistemi	10
2.3.1.8. Kupffer ve Sinuzoidal Endotel Hücreleri	10
2.3.1.9. Hücre Ölümü	11
2.4. Serbest Radikaller	11
2.4.1. Serbest Radikallerin Oluşması	11
2.4.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri	12
2.4.2.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)	13

2.4.2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	13
2.4.2.3. Hidroksil Radikali ($OH^\cdot$)	14
2.4.3. Serbest Radikal Kaynakları	14
2.4.4. Serbest Radikallerin Etkileri	15
2.4.4.1. Lipidlere Etkileri	16
2.4.4.2. Proteinlere Etkileri	16
2.4.4.3. Karbonhidratlara Etkileri	16
2.4.4.4. DNA'ya Etkileri	17
2.5. Antioksidanlar	17
2.5.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	17
2.5.2. Endojen Antioksidanlar	18
2.5.3. Eksojen Antioksidanlar	18
2.5.4. Enzimatik Antioksidanlar	19
2.5.4.1. Süperoksit Dismutaz	19
2.5.4.2. Katalaz	19
2.5.4.3. Glutasyon Peroksidaz	20
2.5.4.4. Glutasyon Redüktaz	20
2.5.5. Enzim Olmayan Antioksidanlar	21
2.5.6. Farmakolojik Antioksidanlar	22
2.6. Deksmetomidin	23
2.6.1. Santral Sinir Sistemi Etkileri	24
2.6.2. Kardiyovasküler Sisteme Etkileri	26
2.6.3. Solunum Sistemine Etkileri	27
2.6.4. Endokrin Sisteme Etkileri	28

2.6.5. Renal Sisteme Etkileri	28
2.6.6. Nöroprotektif Etkileri	28
3. GEREÇ ve YÖNTEM	30
3.1. Analizler	31
3.2. Dokuların Biyokimyasal Analizlere Hazırlanması	31
3.3. Analizlerin Yapılması	32
3.3.1. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi Ölçümü	32
3.3.2. Katalaz Enzim Aktivitesi Ölçümü	32
3.3.3. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivite Ölçümü	33
3.3.4. Malondialdehit Miktarının Ölçümü	33
3.3.5. Protein Ölçümü	33
3.3.6. Glutasyon ölçümü	33
3.4. Verilerin İstatistiksel Analizi	34
4. BULGULAR	36
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	44
7. ÖZET	45
8. SUMMARY	47
9. KAYNAKLAR	49

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Reaktif oksijen türleri	13
Tablo 2. Serbest radikallerin in vivo ortamda kaynakları	15
Tablo 3. Bilinen doğal (endojen) antioksidanlar	21
Tablo 4. Bilinen farmakolojik (eksojen) antioksidanlar	22
Tablo 5. Karaciğer dokusunda MDA, SOD, KAT, GSH-Px ve GSH düzeyleri [ortanca (min-maks), ortalama $\pm$ SD]	35
Tablo 6. Karaciğer dokusunda MDA, SOD, KAT, GSH-P _x ve GSH düzeyleri (gruplar arası karşılaştırmalardaki p değerleri)	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarının patofizyolojisi	6
Şekil 2. Deksmetomidin hidroklorürün kimyasal yapısı	23

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Gruplardaki MDA düzeyleri	36
Grafik 2. Gruplardaki SOD düzeyleri	37
Grafik 3. Gruplardaki KAT düzeyleri	38
Grafik 4. Gruplardaki GSH-P _x düzeyleri	39
Grafik 5. Gruplardaki GSH düzeyleri	39

KISALTMALAR

ATP	Adenozin trifosfat
CINC	Nötrofil kemoçekicisi
ÇDYA	Çoklu doymamış yağ asidi
ENA-78	Epitel hücre kökenli nötrofil aktive edici peptid 78
ET	Endotelin
GST	Glutasyon S-transferazlar
GS-SG	Okside glutasyon
GSH	Redükte glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GFH	Glomerüler filtrasyon hızı
HNE	4-hidroksinonenal
ICAM-1	İntersellüler adezyon molekülü
İL	İnterlökin
İR	İskemi ve reperfüzyon
KAT	Katalaz
KC	Karaciğer
L [•]	Lipid radikali
LT	Lökotrien
MAPK	Mitojen aktive eden protein kinaz
MDA	Malondialdehid
MIP	Makrofaj inflamatuvar protein
MCP	Monosit kemoatraktan protein
NO	Nitrik oksid
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotid
NL	Nötrofil lökosit
PMNL	Polimorf nüveli lökositler
PAF	Platelet aktive edici faktör
PG	Prostaglandin
SEH	Sinüzoidal endotel hücreleri
SOR	Serbest oksijen radikalleri

SOD	Süperoksit dismutaz
TNF- α	Tümör nekroz faktör
TxA2	Tromboksan A2
VCAM-1	Vasküler adezyon molekülü-1

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İskemi, dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan gereksiniminin dolaşım tarafından sağlanamaması ve oluşan artık ürünlerin uzaklaştırılamaması olarak tanımlanır (1). Reperfüzyon ise bu iskemik dokudaki kan dolaşımının tekrar sağlanmasıdır. İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması dokunun oksijen ve diğer metabolik gereksinimlerini karşılarken dokulara iskemik hasardan daha fazla zarar verebilmektedir (2). Bu olay iskemi ve reperfüzyon (İR) hasarı olarak adlandırılmaktadır.

Karaciğer ile ilgili cerrahi girişimler (Pringle manevrası veya total vasküler klempaj) ve karaciğer transplantasyonu (rezeksiyon sonrası reanastomoz yapıncaya kadar geçen soğuk iskemi süresi) gibi durumlarda geçici olarak kan akımının durması ile iskemi, kan dolaşımının tekrar sağlanması ile de reperfüzyon oluşmaktadır. Karaciğer İR hasarı Kupffer hücre aktivasyonu, serbest oksijen radikalleri (SOR) üretimi, nötrofil infiltrasyonu, adezyon molekülleri artışı, sitokin salınımı, hepatosit hasarı ve sinuzoidal endotelial hücrelerin ayrılması gibi süreçlere bağlıdır. Bu çok basamaklı hasarın mekanizması tam olarak açıklanamamıştır ancak kanıtlar hasarda anahtar rolün SOR tarafından oynandığına işaret etmektedir (2).

Serbest radikallerin zararlı etkileri, bazı maddeler tarafından azaltılabilir. Hücre içinde oksijenin metabolize edildiği her yerde, antioksidanlar, oksijen ara metabolitlerini azaltmak için hızlı ve özellikli olarak çalışırlar. Antioksidan savunmada öncelikli etkili olanlar enzimatik antioksidanlardır. Bunlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimlerdir (3).

Yapılan birçok çalışma, kalp, karaciğer, beyin, barsak ve böbreklerde İR hasarının bazı antioksidanlar ile belli ölçülerde önlenebildiğini göstermektedir.

Deksmedetomidin çok güçlü ve ileri derecede selektif bir α_2 reseptör agonistidir. α_2 reseptör agonistlerinin sedatif, anksiyolitik ve analjezik özellikleri premedikasyon amaçlı kullanım için ilgi çekmiş, hatta düşük doz deksmedetomidin infüzyonunun bunlara ek olarak amnezik özellik taşıdığı da gösterilmiştir. Endotrakeal entübasyon sırasında gelişen hemodinamik değişiklikleri azaltması, intraoperatif dönemde hemodinamik stabilite sağlama, anestezi ve analjezi gereksinimini azaltması önemli avantajlarıdır (4).

Deksmedetomidinin; fokal iskemiye karşı koruyucu olduğu tavşanlarda, kardiyak ve beyin iskemi reperfüzyon hasarına karşı etkili olduğu ise ratlarda yapılan deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. Artan klinik kullanımına karşın karaciğer İR hasarına karşı deksmedetomidinin etkileri bilinmemektedir.

Bu çalışmada segmental hepatik iskemi uygulanan ratlarda, İR sonucu oluşan karaciğer hasarına karşı deksmedetomidinin koruyucu etkileri incelenmeye çalışıldı.

2. GENEL BİLGİLER

Hepatik cerrahi uygulamaları anesteziistlerin karşı karşıya olduğu yüksek riskli major abdominal girişimlerin başında gelmektedir (5).

Karaciğer ile ilgili cerrahi girişimler (*Pringle* manevrası veya total vasküler klempaj) ve karaciğer transplantasyonu (rezeksiyon sonrası reanastomoz yapılınca) kadar geçen soğuk iskemi süresi) sonrasıoluşan hasar bu bölgede sınırlı kalmayıp, aktive olan birçok mekanizma ile ortaya çıkan toksik ürünler, başta akciğer olmak üzere kalp, beyin, böbrekler gibi uzak organlarda hasar oluşturur ve uzun süreli yoğun bakım izlemi gerektirebilecek çoklu organ yetersizliğine neden olabilmektedir (6,7).

2.1. İskemi

İskemi; arteriyel veya venöz kan akımı azalması yada kesilmesine bağlı organ ve dokuların oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının sağlanamaması, oluşan artık ürünlerin dolaşım tarafından uzaklaştırılamaması olarak tanımlanır (8,9). Kan akımındaki azalma sonrası geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre zedelenmesi ortaya çıkar. Hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikimi sonucu hücre ölümü oluşabilir (8).

İskemi sırasında hücre membranında bulunan Na^+/K^+ pompası için gerekli olan enerji sağlanamaz. K^+ iyonları hücre dışına çıkarken Na^+ ve Cl^- iyonları hücre içine girerler. Anaerobik glikolizle adenozin trifosfat (ATP) üretilmeye çalışılır, bu da laktik asit üretimi ile sonuçlanır. Karbondioksitin birikimi karbonik asit (H_2CO_3) üretimi ile sonuçlanır, böylece asidoz artar.

Adenozin trifosfat bağımlı çalışan diğer bir sistem ise ekstrasellüler ve intrasellüler Ca^{+2} u dengelemektedir. İntrasellüler Ca^{+2} artışı ile proteolitik enzimler ve fosfolipazlar aktive olurlar. Fosfolipazların aktivasyonu araşidonik asit oluşumu ile sonuçlanır. Araşidonik asit mitokondriyal enzimleri inhibe eder ve serbest radikal oluşumunu artırır (10,11).

Anoksik veya iskemik koşullarda adenozinin ekstrasellüler düzeyi artmaktadır. Bu artış muhtemelen intrasellüler ATP'nin yıkılmasına bağlıdır. İskemi sırasında meydana gelen ATP yıkımı glikolizisi indüklemektedir. Glikolizis ise laktat oluşumunu hızlandırmaktadır (10,12).

Uzamış hipoksi; membran potansiyeli, iyon geçişi ve endotelial hücrelerin iskelet yapısını bozmakta ayrıca intrasellüler volümü artırmaktadır. Bu değişiklikler enerji depolarının, prostasiklin (PGI_2) ve nitrik oksit (NO) gibi bazı biyoaktif maddelerin yapımının azalması, endotelin (ET) ve tromboksan A2 (TxA2) gibi maddelerin yapımının artması ile birliktedir (6,13).

2.2. Reperfüzyon

Reperfüzyon hasarı; belirli bir süre iskemiyeye maruz kalan dokuların tekrar perfüze olması sonucu mikrosirkülasyonda görülen tıkanmalar ve tekrar perfüze olan dokunun nekrozu ile karakterize bir hasarlanma olarak tanımlanmıştır (14). İskemik dokuda kan akımının geri dönüşüyle enerji kaynağı yeniden sağlanarak toksik metabolitler uzaklaştırılabilir. Ancak toksik metabolitlerin sistemik dolaşıma dönmesi, ciddi metabolik olaylara neden olduğundan, iskemi fazında oluşan hasar reperfüzyon fazında daha da artar ve ciddi doku hasarı meydana gelebilir (13).

İR hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bunlar birbiriyle ilişkileri karmaşık hücrel ve humoral olaylar serisidir. Özellikle; SOR, polimorf nüveli lökositler (PMNL), kompleman sistemi ve endotel hücreleri olmak üzere başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasında sayılmaktadır (10).

2.3. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Hasarı

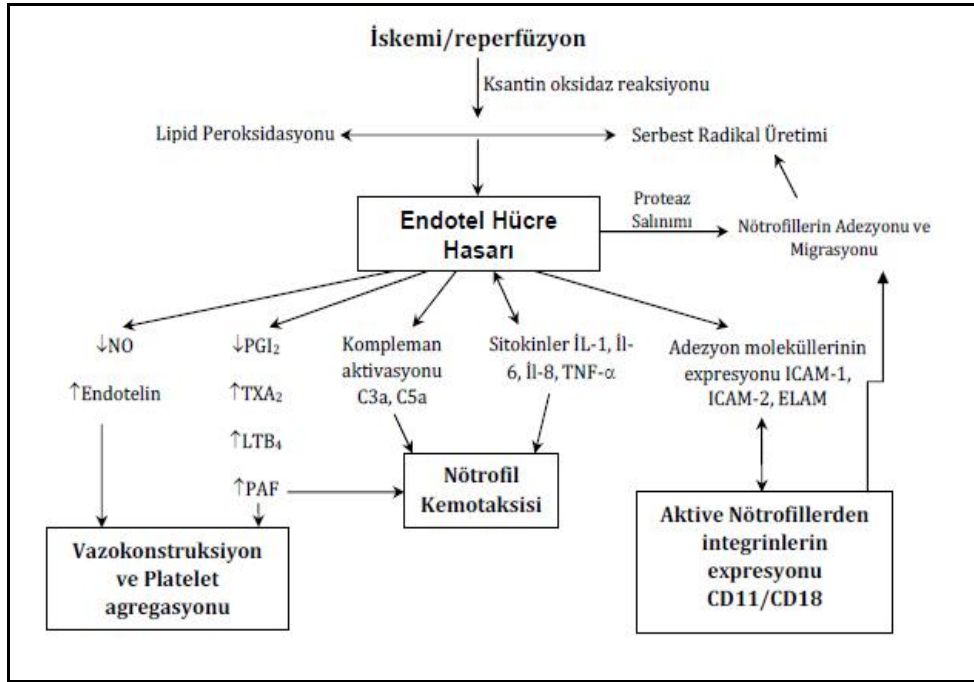
Karaciğer İR hasarı ilk kez 1975'de deneysel olarak gerçekleştirilen karaciğer naklinde gösterilmiştir (8). Transplante edilmiş karaciğerde konjesyon, ilerleyici tromboz ve organ yetmezliği ile sonuçlanan greft nekrozu gelişmiştir (15).

İR hasarı karaciğer rezeksiyonu ya da nakli sonrasında görülen fonksiyon kaybı veya fonksiyon bozulmasının başlıca nedenidir (8). Karaciğer İR hasarı sıcak İR ve soğuk depolama reperfüzyon hasarı olarak ikiye ayrılmaktadır. Soğuk depolama reperfüzyon hasarı KC implantasyonu öncesi organ korunması sırasında meydana gelmektedir. Sıcak İR hasarı ise KC cerrahisi ile ilişkilidir (16). Tezimizde sıcak İR hasarı ele alınacaktır.

Karaciğer kan akımının %70–80'i portal venden, geri kalan kısmı ise hepatik arterden sağlanmaktadır (8,17). İkili kan desteği ve glikojen depolarının yüksek anaerobik metabolizma kapasitesine rağmen karaciğerde hipoksik hasarlanma meydana gelebilmektedir (18).

Pringle manevrası, karaciğerin geniş yaralanmalarında yapılan onarımlarda, karaciğer nakli ve karaciğer rezeksiyonu sırasında kanama kontrolü için yararlı bir girişimdir. Ancak klempleme süresinin uzun olması karaciğer İR hasarına neden olabilir (8,18).

Karaciğer İR hasarında ışık mikroskopik olarak incelendiğinde santral nötrofil lökosit (NL) infiltrasyonu, bölgesel hemoraji ve nekroz, konjesyon, sinuzoidler ve kılcal damarlarda genişleme, bölgesel hepatoselüler vakuolizasyon, hepatosit şişmesi gibi değişiklikler görülür (19,20). Şekil 1'de karaciğer İR hasarının fizyopatolojisi gösterilmiştir (16).



Şekil 1: Karaciğer İR hasarının patofizyolojisi: NO, nitrik oksid; PGI₂, prostasiklin; TXA₂,tromboksan A₂; LTB₄,lökotrien B₄; PAF, Platelet aktive edici faktör; IL, İnterlökin; TNF, tümör nekroze edici faktör; ICAM, İntersellüler adezyon molekülü; ELAM, Endoteliyal lökosit adezyon molekülü

Karaciğerde İR hasarı iki fazda meydana gelmektedir:

1. Erken faz (0-2 saat): Reperfüzyondan sonra iki saat içinde görülür. Kupffer hücrelerinde SOR oluşumu ile karakterizedir. SOR üretimi ve salınımı hepatositlerde hasarlanmaya neden olur.
2. Geç Faz (6-48 saat):Nötrofillerin, makrofajların, lenfositlerin ve trombositlerin karaciğere göçü ile inflamasyon yanıtı uyarılmakta ve sinüzoidal kan akımında değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Hepatositlerdeki hasar SOR ve ekstrasellüler sitokinler ile meydana gelmektedir (21).

Karaciğer İR hasarının erken fazında endoteliyal hücre şişmesi, vazokonstriksiyon, koagülasyon sisteminin aktivasyonu, platelet agregasyonu ve lökosit infiltrasyonu sonucunda mikrosirkülasyonda bir yetersizlik gelişir (6,8). Vazokonstriksiyon; NO ve ET dengesindeki bozulma sonucu ortaya çıkar. Sinüzoidal lümen daralır, bunu takiben NL'nin dolaşım hızı yavaşlar. NL'nin endotel ile temas süresi artar ve böylece lökostazis gerçekleşir. Bu durumda

sinuzoidal ağ dolaşımı engellenir. Bu da hipoksiyi uzatır. Ardından Kupffer hücreleri ve NL'ler aktive olur, inflamatuvar sitokinler ve SOR ortaya çıkar ve hepatik hasar daha da şiddetlenir (20).

Hepatik İR hasarı modellerinde komplemanın da İR hasarında rol oynadığı gösterilmiştir. Anaflatoksinler ve kompleman aktivasyonu sonucu ortaya çıkan ürünler; karaciğerde NL aktivasyonu, vazokonstriksiyon, mikrosirkülasyonda bozulma, vasküler permeabilitede artış ve hücre lizisi ile ilişkilidir. Ayrıca sitokinler, intrasellüler proteinlerin serbestleşmesi ve SOR kompleman aktivasyonunda rol oynuyor olabilir (20).

Serbest oksijen radikalleri hücrede sarkolemma, sarkoplazmik retikulum ve ekstrasellüler kollajen matriks veya kontraktıl proteinler gibi organellerde, bunları takibende Ca^{+2} 'a bağlı mekanizmalarda bozukluklar oluşturur. Serbest sitozolik Ca^{+2} 'un artışı protein kinazları, fosfolipazları ve diğer yıkıcı enzimleri aktive eder ve subsellüler hasarın artmasına yol açar. Aşırı Ca^{+2} yüklenmesi, oksijen radikalleri ile başlayan hasarı artırır (10).

2.3.1. Karaciğer İskemi- Reperfüzyon Hasarı Oluşum Mekanizmaları

2.3.1.1. pH Paradoksu

İskemi sırasında, anaerobik glikoliz ve ATP hidrolizi nedeniyle pH düşer. Oluşan metabolik asidoz hepatositlerde hücre ölümünün başlamasına karşı koruyucu işlev görür. Ancak iskemik hücrelerde reperfüzyonla birlikte pH'nın normale dönmesi pHbağımlı proteazları ve fosfolipazları aktive ederek hücre ölümüne neden olur. Bu durum **pH paradoksu** olarak adlandırılır (10,22-24).

2.3.1.2. Oksidatif Stres

Serbest oksijen radikalleri normal hücre fonksiyonları sonucunda ortaya çıkan moleküllerdir (8).Bu moleküllerdeki artış yüksek ve/veya uzun süreli olduğunda DNA, lipid ve proteinlerde çok ciddi hasara neden olabilmektedir. SOR birikimine karşı bir takım savunma sistemleri bulunmaktadır. Ancak her

zaman bu savunma mekanizmaları SOR üretimine karşı yeterli olmaz ve oksidatif stres durumu ortaya çıkar (8, 25, 26). En genel SOR kaynağı mitokondridir. Mikrozomal sitokrom P450 özellikle de karaciğerde belli miktarda SOR üretebilir ve eksojen substratlarla en çok burada etkileşirler. Bilinen diğer reaktif oksijen partikül kaynakları fagositik hücreler, NL ve monositlerdir. Bu hücreler fagositoz için uyarıldıklarında yüksek miktarda ekstrasellüler SOR üretmektedirler (8).

2.3.1.3. Nitrik Oksit ve Endotelin

Nitrik oksit KC'de yapısal enzimler olan endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) ve uyarılabilen nitrik oksit sentaz (iNOS) tarafından sentezlenir. eNOS sadece sinuzoidal endotelyal hücrelerde üretilmektedir, iNOS ise endotelyal hücreler, hepatositler ve diğer KC hücreleri tarafından düzenlenmektedir. NO hücre membranından serbestce difüze olur ve sitoplazmik guanilat siklazı aktive ederek vazodilatasyon oluşturur (27-30). ET oldukça güçlü bir vazokonstriktördür. Reperfüzyonun erken safhalarında ET hem plazma hem de KC parankiminde artarken NO miktarı düşer. İR hasarının reperfüzyon boyunca NO ve ET arasındaki denge bozukluğunun bir sonucu olduğu düşünülmektedir (20).

2.3.1.4. Sitokinler

Sitokinler IR hasarının başlamasında, sürdürülmesinde ve şiddetinin belirlenmesinde kritik ve önemli roller oynamaktadırlar. Kupffer hücrelerinin aktivasyonu ile proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α , IL-1, IL-6, platelet aktive edici faktör (PAF) ve lökotrienler (LT) salınır. Yine aynı hücrelerden antiinflamatuvar mediatör olan prostoglandin (PG), IL-10 ve IL-13 salınır. Bu maddelerden en çok çalışılan ve bilinenler TNF- α , IL-1 ve IL-6'dır. Bu sitokinler belirgin proinflamatuvar aktiviteye sahip olup IL-8 sentezini artırır ve antiinflamatuvar özellikleri olan IL-10 salınımını da azaltırlar. TNF- α , lökosit kemotaksisi, nötrofil aktivasyonu, SOR'un uyarılması, mitokondrial toksisite ve

apoptotik hücre ölümüne neden olur (31).LT-C4, D4, E4 miktarının KC dokusunda reperfüzyon'dan 12-24 saat sonra 4-5 kat arttığı bildirilmiştir (32). PGE₁, PGI₂, IL-10 ve IL-13'ün ise hayvan modellerinde KC İR hasarını azalttığı gösterilmiştir (33-37).

2.3.1.5. Kemokinler

Kemokinler, güçlü NL kemotaktan özellikleri olan düşük moleküler ağırlıklı proteinlerdir. Sitokinler kemokin oluşumunu indüklerler. TNF- α , AC'den ENA-78 kemokininin salınmasını uyarır, bu da AC hasarının ortaya çıkmasına neden olur. Diğer kemokinler IL-8, PAF-4, Nötrofil kemoçekicisi(CINC), Makrofaj inflamatuvar protein (MIP) ve Monosit kemoatraktan protein (MCP) dir (8).

2.3.1.6. Nötrofiller ve Adezyon Molekülleri

İR hasarının erken reperfüzyon fazında NL'ler KC damar yatağında toplanır, aktive olurlar ve reperfüzyon hasarını şiddetlendirirler. İR hasarında lökosit aracılı hasarın oluşumu; mikrovasküler tıkanıklık, SOR salınımı, sitotoksik enzim salınımı, vasküler permeabilite artışı ve artmış sitokin salınımı gibi bir çok mekanizmaya dayanmaktadır. Nötrofillerin vasküler kompartmanda toplanmasında ve dokuya geçişinde bir çok lökosit adezyon molekülü görev yapmaktadır (38-42).

Hücrel adezyon kuvvet molekülleri, selektin, integrin ve immunglobulin süper ailesi olmak üzere ayrılırlar (8). Selektin, molekülün hücre dışı kısmında çeşitli kompleman bağlama tekrarları olan lektin-bağlı glikoproteindir. Endotel hücrelerde (E-selektin), plateletlerde (P-selektin) ve NL'lerde (L-selektin) bulunur. Bu moleküller doku hasarında, lökositlerin aktive endotele tutunmasında önemli olan partiküllerdir.

İntegrinler, NL yüzeyinden salgılanır. Damar endotel hücrelerinden salınan immunglobulin benzeri adezyon kuvvet moleküllerine (örn; ICAM-1)

bağlanır (8). Nötrofil aracılı hasarın oluşabilmesi için önce nötrofiller damar dışına çıkmalıdır. Bu işlem için $\beta 2$ -integrinler-ICAM-1 ve $\beta 1$ -integrinler-VCAM-1 etkileşimleri gereklidir. Bu süreç sonunda, lökositlerde degranülasyon ve adezyona bağlı oksidan stres ortaya çıkar (43,44).

2.3.1.7. Hem Oksijenaz (HO) Sistemi

HO, hem molekülünü serbest demir, karbon monoksit (CO) ve biliverdin oluşturmak üzere parçalayan reaksiyonu katalizler ve hız kısıtlayıcı enzimdir. HO'nun HO-1, HO-2 ve HO-3 olmak üzere üç izo-enzimi vardır. Fizyolojik koşullarda başta beyin ve testisler olmak üzere dokularda bulunan temel izoform HO-2'dir. HO-1 ise ısı-şok proteini olarak bilinir. HO-1 karaciğer İR hasarı durumunda aktive olur ve sitoprotektif etkisi vardır (45,46).

HO reaksiyonunun ürünleri İR sürecinde koruyucudur. Biliverdin; endotel hücrelerinden adezyon moleküllerinin, proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltarak ve antiapoptotik yolun regülasyonunu yaparak, İR sürecinde koruyucu etkiler göstermektedir. Diğer hem yıkım ürünü olan CO mikrosirkülasyonun düzenlenmesinde önemlidir. İnhal CO tedavisinin erken proinflamatuvar gen ekspresyonunu ve nötrofil infiltrasyonunu azaltarak, karaciğer İR ve transplantasyon modellerinde hasarı azalttığı gösterilmiştir (47,48). CO, antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkilerini p38 MAPK-sinyal yolunu modüle ederek göstermektedir (45). Ayrıca eksojen CO, TNF α , IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltmakta ve IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokinlerin salınımını artırmaktadır (45).

2.3.1.8. Kupffer ve Sinuzoidal Endotel Hücreleri

Kupffer hücreleri, endotelial hücrelerin lümene bakan yüzünde bulunur. Tipik makrofajlardır (49). Aktive edildikleri zaman sitokin ve SOR gibi inflamatuvar mediatörlerin salınımına neden olurlar. Bunlar İR hasarının patogenezinde önemli rol oynayan partiküllerdir (50).

Sinuzoidal endotel hücreleri (SEH) kan damarlarının iç yüzeyini döşeyen tek sıralı hücreler olup, vasküler homeostaz için temel yapılardır. Bu hücreler İR'den kolaylıkla hasar görür (8, 51).

2.3.1.9. Hücre Ölümü

Apoptoz, organizmanın ihtiyaç duymadığı, biyolojik görevini tamamlamış veya hasarlanmış hücrelerin, zararsız bir biçimde ortadan kaldırılmasını sağlayan programlı hücre ölümüdür (8,52).

Apoptoz, nekrozdan farklıdır. Nekrozda hücre membran bütünlüğü belirgin biçimde bozulur. Hücre şişmesi ve lizis olur. Sıklıkla nekroz bir grup hücre veya dokuda bir bölgeyi tutarken, apoptoz tek hücre düzeyinde gerçekleşir (53). Karaciğer İR hasarında her iki hücre ölüm formu bir arada bulunur. Ancak apoptoz daha önemli rol oynar (54). İR hasarında SOR, lipid peroksidasyonunu tetikler bu da membran fonksiyon bozukluğuna ve hücre ölümüne yol açar (55).

Yapılan hayvan çalışmalarında apoptoz mekanizmalarının erken engellenmesinin reperfüzyon sonrası parankim hasarını azalttığı gösterilmiştir (56).

2.4. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngesinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron içeren atom ya da moleküllerdir (57).

2.4.1. Serbest Radikallerin Oluşması

Bir serbest radikal üç yolla ortaya çıkabilir (57,58):

1. Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşurlar.
2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşurlar.
3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.

2.4.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşmuş radikallerdir (59).

Oksijen atomunun dış yörüngesini oluşturan p orbitalinde iki elektron eksik olmasından ötürü “diradikal” olarak değerlendirilir. Bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar.

Radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girer. Oksijen metabolizmada en son suya indirgenirken, kısmi olarak indirgenmesi ile de çok sayıda reaktif oksijen türleri oluşmaktadır (60). Oksijen bu kararsız yapısını giderebilmek için başka bir oksijen atomunun dış yörüngesindeki iki elektronu ortaklaşa kullanarak “Oksijen Radikalleri’ni” oluşturur (61).

Serbest oksijen radikalleri çok kısa ömürlü ve güçlü oksidanlardır.

Bunlar:

1. Süperoksit radikali
2. Hidroksil radikali
3. Hidroperoksi radikali ve H_2O_2
4. Singlet oksijen
 - A. Delta singlet oksijen
 - B. Sigma singlet oksijen

Reaktif oksijen türleri sadece serbest oksijen radikallerini içermeyip, radikal olmayıp, oksijen radikali üretiminde yer alan oksijen türlerini de içerir. Tablo 1’ de reaktif oksijen türleri verilmiştir.

Tablo 1: Reaktif Oksijen Türleri

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Süperoksit	O_2^-	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksil	OH^-	Lipid hidroperoksit	LOOH
Peroksil	ROO^-	Peroksinitrit	$ONOO^-$
Alkoksil	RO^-	N-Halojenli aminler	R-NH-X
Nitrik oksit	NO^-	Ozon	O_3
Azot dioksit	NO_2	Singlet Oksijen	O_2

2.4.2.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)

Süperoksit radikali hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir.

Süperoksit, başka moleküller ile kolayca elektron alışverişine girebilen bir serbest radikal olmakla birlikte, kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (58,62). Hücre membranındaki siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimleri lökosit membranındaki, NADH oksidaz enzimi, sitoplazmadaki ksantin oksidaz ve triptofan dehidrogenaz enzimleri, geçiş metalleri varlığında hemoglobin, flavinler ve monoaminlerin otooksidasyonu ile moleküler oksijenin P450 sisteminde tek elektronla indirgenmesiyle moleküler oksijenden oluşabilir (58,63).

2.4.2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit (H_2O_2), oksijenin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton (H^+) ile birleşmesi sonucu meydana gelir. Peroksit molekülü, iki hidrojen atomu ile birleşecek olursa H_2O_2 molekülü oluşur.

Biyolojik sistemlerde H_2O_2 'nin asıl üretimi, süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak H_2O_2 ve moleküler oksijeni oluştururlar. Bu reaksiyon, radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir, ya spontan gerçekleşir ya da SOD tarafından katalizlenir (58,64,65).

Radikal oluşumuna neden olduğu için, biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2 'nin derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan katalaz ve GSH-Px katalizörlüğündeki aynı reaksiyon yapar (66).

H_2O_2 membranlardan geçebilen uzun ömürlü oksidandır. Kendisi bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Geçiş metal iyonları varlığında daha da hızla gerçekleşen bir reaksiyonla süperoksit anyon radikali ile birlikte en reaktif radikal olan hidroksil radikalini oluşturur (60).

2.4.2.3. Hidroksil Radikali ($OH^\cdot$)

Hidroksil radikali en aktif radikal olarak bilinir. İn-vivo oluşan bir $OH^\cdot$ radikali yarı ömrü çok kısa olmasına rağmen hemen her moleküle saldırır ve oluştuğu yerde de büyük hasara neden olur (67).

Süperoksit, Cu^{+2} gibi geçiş metalleri ve radikal türleri ile kolayca reaksiyona girip H_2O_2 ile Haber-Weisstepkimesi vererek oldukça toksik hidroksil radikalini oluşturur (64). Ayrıca demir iyonu varlığında Fentontepkimesi ile de oluşur (64).

Singlet oksijen ortaklaşmış elektronu olmadığından radikal olmayıp serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olabilir (68).

2.4.3. Serbest Radikal Kaynakları

Mitokondrilerde oksijenli solunumda olduğu gibi birçok anabolik ve katabolik işlemler sırasındaki reaksiyonlarda moleküler düzeyde elektron

kaçışları olur ve bu sırada SOR oluşur. Tablo 2'de serbest radikallerin in vivo ortamda kaynakları görülmektedir (69).

Tablo 2: Serbest radikallerin in vivo ortamda kaynakları

NORMAL BİYOLOJİK İŞLEMLER	1-Oksijenli Solunum 2-Katabolik ve anabolik işlemler
OKSİDATİF STRES YAPICI DURUMLAR	1-İskemi, hemoraji, travma, radyoaktivite, intoksikasyon 2-Ksenobiotik maddelerin etkisi a) İn hale edilenler b) Alışkanlık yapan maddeler c) İlaçlar 3-Oksidan enzimler a) Ksantin oksidaz b) İndolamin dioksigenaz c) Triptofan dioksigenaz d) Galaktoz oksidaz e) Siklooksigenaz f) Lipooksigenaz g) Monoamino oksidaz 4-Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu 5-Fagositik inflamasyon hücrelerinden salgılanma (nötrofil, monosit, makrofaj, eosinofil, endotelial hücreler) 6-Uzun süreli metabolik hastalıklar 7-Diğer nedenler: Sıcak şoku, güneş ışını, sigara
YAŞLANMA SÜRECİ	

2.4.4. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller antioksidan savunma mekanizmasının kapasitesini aştıkları zaman çeşitli bozukluklara yol açarlar. Lipit, karbonhidrat, protein ve DNA gibi biyomolekülleri hedef alırlar (70).

2.4.4.1. Lipidlere Etkileri

Serbest radikallerin ilk karşılaştıkları yapı genellikle organizmaların lipid komponentleridir. Hücre membranı bol miktarda çoklu doymamış yağ asiti (ÇDYA) içerdiğinden oksidan ajanlar için hedef olmaktadır.

Biyolojik moleküllerden bir hidrojen atomu çıkarsa geride eşleşmemiş elektron bırakır. Eğer radikaller ÇDYA ile reaksiyona girip hidrojen atomu koparırsa geride kalan kısım lipid radikalini oluşturur. Oluşan lipid radikali moleküler oksijenle reaksiyona girip lipid peroksil radikalini oluşturur. Oluşan lipid peroksil radikali bir başka ÇDYA ile reaksiyona girerek kendisi lipid hidroperoksite dönüşürken ürün olarak bir başka lipid (L[•]) radikali oluşur. Peroksil radikalleri zincir reaksiyonunu devam ettirir.

Oluşan lipid hidroperoksit geçiş metallerinin katalizi ile yıkılıp çoğu zararlı olan aldehitler oluşur. Lipid peroksidasyonu sonucunda ortaya çıkan çeşitli aldehitlerden en iyi bilinenleri Malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (HNE)'dir. MDA ölçümü ile lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesi yapılabilmektedir (71,72).

2.4.4.2. Proteinlere Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı lipidlere göre daha az hassastır. Hassasiyetteki bu azalma aminoasit içeriğine bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerden meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden nispeten daha kolay etkilenir. Serbest radikallerin meydana getirdiği hasar sonucunda proteinlerin yapısında bozulma meydana gelir. Enzimler protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir ve görevlerini yerine getiremezler (73).

2.4.4.3. Karbonhidratlara Etkileri

Hidroksil radikali glukoz, mannitol ve deoksi şekerlerle doğrudan reaksiyona girer. Monosakkaritlerin oksidasyonu ile peroksitler, H₂O₂ ve okzoaldehitler oluşur. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve

çapraz bağlar yapma özelliğinden dolayı hücrede zararlı etkilere yol açarlar (74).

2.4.4.4. DNA'ya Etkileri

Serbest radikallerle nükleotidlerin etkileşmesi sonucu DNA zincirinde kırılma ve mutasyonlar oluşabilir. DNA hasarının büyüklüğü serbest radikallerin polimeraz enzimi ile reaksiyona girerek DNA'nın onarılmasını engellemesi ile ilişkilidir. Bu da hücre ölümü veya mutasyonla sonuçlanabilir (74).

2.5. Antioksidanlar

Vücutta serbest radikallerin oluşumu ve bunların meydana getirdiği zararı önlemek için birçok mekanizma vardır. Bu mekanizmalar kısaca antioksidanlar olarak bilinirler. Antioksidanlar serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek hücreleri hasara karşı korurlar (75).

2.5.1. Antioksidanların Sınıflandırılması (76,77):

1. Etki mekanizmalarına göre :

a. Toplayıcı etkili antioksidanlar: Serbest oksijen radikallerini tutar veya daha zayıf yeni moleküle çevirirler. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

b. Bastırıcı etkili antioksidanlar: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltır veya inaktif şekle dönüştürürler. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

c. Zincir kırıcı etkili antioksidanlar: Serbest oksijen radikallerini bağlayarak, zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engellerler. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

d. Onarıcı etkili antioksidanlar: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılmasını sağlarlar.

2. Yapılarına göre:

Enzimler

Enzim olmayanlar

3. Yerleşimlerine göre:

İntraselüler yerleşimli olanlar

Plazma ve diğer ekstraselüler sıvılarda bulunanlar

4. Çözünürlüklerine göre:

Suda çözünenler

Yağda çözünenler

5. Kaynaklarına göre:

Endojen olanlar

Ekzojen olanlar

2.5.2. Endojen Antioksidanlar

Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Enzim olan endojen antioksidanların başlıcaları Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksida (GSH-Px), glutatyon S-Transferaz(GST), katalaz (KAT), mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi ve hidroperoksidadaz olarak sayılabilir. Enzim olmayan endojen antioksidanlar ise, melatonin, seruloplazmin, transferrin, miyogloblin, hemogloblin, ferritin, bilirubin, glutatyon, sistein, metiyonin, urat, laktoferrin ve albümin gibi moleküllerdir (58,76,78-81).

2.5.3. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler. Vitamin olan eksojen antioksidanlar;E vitamini, β -karoten, C vitamini ve folik asittir.

İlaç olarak da kullanılan eksojen antioksidanlar ksantin oksidaz inhibitörleri (allopurinol, oksipurinol, pterin aldehit, tungsten); NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestetikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, diphenylene iodonium), rekombinant SOD, Trolox-C (vitamin E analogu); endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein); nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albumin); demir

redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin); nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler (TNF ve IL-1), barbitüratlar ve demir şelatörleridir (58,76,79-82).

2.5.4. Enzimatik Antioksidanlar

2.5.4.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (EC 1.15.1.1, EC-SOD)süperoksit radikalının H_2O_2 ve suya dönüşümünü katalizler (83).

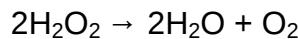


İnsanda SOD'un iki izomeri bulunmaktadır. **Cu-Zn SOD**sitozolda bulunur, Cu ve Zn içerir, dimerik yapıdadır, siyanidle inhibe edilir. **Mn SOD** mitokondride bulunur, Mn içerir, tetramerik yapıdadır, siyanidleinhibe olmaz. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-ZnSOD'dır (84-86).

SOD'nin fizyolojik fonksiyonu hücreleri O_2 'nin lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. SOD aktivitesi, yüksek O_2 kullanımı olan dokularda fazladır ve doku PaO_2 artışıyla artar. SOD'nin ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (84-86).

2.5.4.2. Katalaz (KAT)

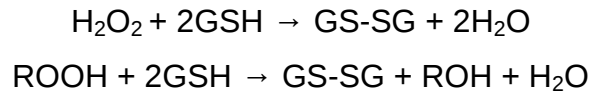
Katalaz ($H_2O_2 : H_2O_2$: oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6)yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. KAT esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolda ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. KAT, H_2O_2 'yi suya ve oksijene parçalar. Demir veya manganeezi kofaktör olarak kullanır (58,81,82,87-89).



Granülomatöz hücrelerde KAT, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan H_2O_2 'yi, OH oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır.

2.5.4.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

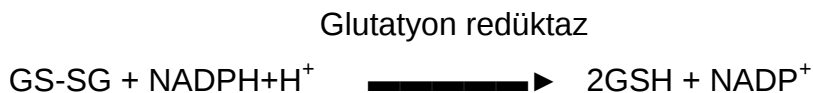
Glutatyon Peroksidaz (glutatyon: H_2O_2 oksidoredüktaz, EC 1.11.1.9) sitoplazmada bulunur, 4 selenyum atomu içerir ve tetramerik yapıdadır. GSH-Px, H_2O_2 ve organik hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. İnsanlarda GSH-Px'in 4 farklı izoenzimi bulunmuştur. GPx-1 en sık bulunandır ve H_2O_2 'in efektif bir yok edicisidir. GSH-Px -4 daha az bulunur ancak lipid hidroperoksitlerine karşı daha aktiftir (58,90,91).



GSH-Px'in fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu yaparak, fagositik hücrelerin zarar görmesini önler. GSH-Px eritrositlerde oksidatif strese karşı koruyan en etkili antioksidandır (58,81,82).

2.5.4.4. Glutatyon Redüktaz

Glutatyon redüktaz (EC 2.5.1.18) okside glutatyonun (GS-SG) tekrar redükte glutatyona (GSH) dönüşümünü katalize eder. Glutatyon S-Transferazlar (GST) başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı, selenyum-bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek, bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar. Bunlar detoksifikasyon da yaparlar (58,81,82,92,93).



2.5.5. Enzim Olmayan Antioksidanlar

Oksidatif stres faktörlerinin giderilerek fizyolojik işlevlerin devamında önemli olan bu gruba ait endojen antioksidanlar ve özellikleri Tablo 3’de gösterilmiştir (94).

Tablo 3: Bilinen doğal (endojen) antioksidanlar (94).

Antioksidanlar	Yapısı	Yerleşimi	Fonksiyonu
Sitokrom oksidaz	Tetramerik protein	Plazma	Süperoksit nötralizanı
SOD	CuZn,Mn	Mitokondri, serum	Süperoksiti H ₂ O ₂ 'ye çevirir.
Katalaz	Hemoprotein	Peroksizomlar	Peroksit nötralizanı
GPx	Selonoprotein	Sitosol, mitokondri	Lipit peroksidasyon ürünlerini indirger
GSH-redüktaz	Dimerik protein	Sitosol, mitokondri	Disülfidleri indirger
α-tokoferol	Yağda çözünen vitamin.	Membranlar, ekstrasellüler ortam	Peroksidasyonu azaltır
β-karoten	Vit-A prekürsörü	Hücre membranları	Peroksil temizleyicisi
Glutasyon	Tripeptit	Intrasellüler ortam, alveoller	GSH redoks substratı
Ürik asit	Okside pürin bazı	Geniş bir dağılım gösterir	Hidroksil toplar, Vit C'yi korur
Sistein	Aminoasit	Geniş bir dağılım gösterir	Organik bileşikleri indirger
Albumin	Protein	Plazma, serum	Serbest radikal giderici
Bilirubin	Hemoprotein ürün	Dolaşım kanı, dokular	Zincir kırıcı antioksidan
Seruloplazmin	Protein	Dolaşım kanı, dokular	Süperoksiti H ₂ O ₂ 'ye çevirir
Transferrin	Glikoprotein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Laktoferrin	Protein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Ferritin	Glikoprotein	Dolaşım kanı, dokular	Doku demiri bağlayıcısı
Askorbik asit	Suda çöz. vitamin	Hücre içi ve dışı sıvıları	Vit E'yi rejenere eder

2.5.6. Farmakolojik (Eksojen) Antioksidanlar

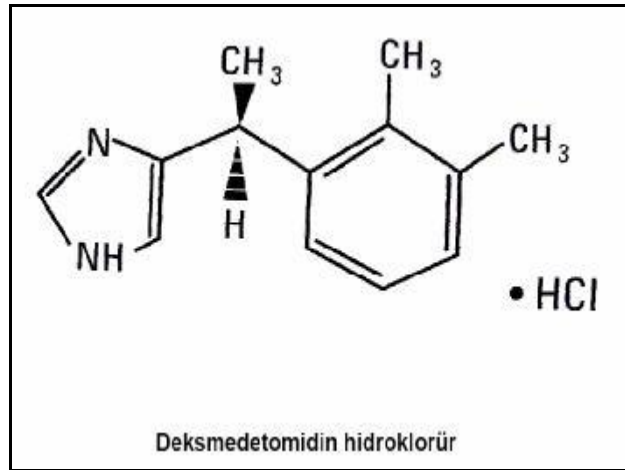
Akut fiziksel aktiviteler ve gebelik gibi fizyolojik durumlar ile pek çok patolojik durumda antioksidan kapasite aşılabilmekte ve antioksidan savunma sistemi yetersiz kalmaktadır. Bu gibi durumlara karşı eksojen antioksidan maddelerin alınımı gerekli olur (Tablo 4) (94).

Tablo 4: Bilinen farmakolojik (eksojen) antioksidanlar (94).

Antioksidan sınıfı	Spesifik tipi	Fonksiyonu
Ksantin Oksidaz İnhibitörleri	Allopurinol Oksipurinol	Ksantin oksidaz reak. süperoksit üretimini inhibe eder
Proteaz İnhibitörleri	Soya tripsin inhibitör Serin proteaz inhibitör	Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder
NADPH Oksidaz İnhibitörleri	Adenozin Lokal anesteziyeler	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit inhibisyonu
Süperoksit Dismutaz	Doğal SOD IgA bağımlı SOD Polietilen glikol SOD	Süperoksitten hidrojen peroksit dismutasyonunu katalizler
	Ginko Biloba (Egb 761)	SOD ile benzer fonksiyon
Katalazlar	Doğal katalaz Polietilen glikol katalaz Lipozom kapsüllü katalaz	H ₂ O ₂ 'nin oksijen ve suya indirgenmesi
Nonenzimatik toplayıcılar	Mannitol	Hidroksil radikal giderici
	Albumin	Geniş çaplı oksidan toplayıcı
	Dimetil sülfosit	Fe, süperoksit, hidroksil toplayıcı
	17- aminosteroid lazaroidler	H ₂ O ₂ ve hidroksil giderici
	Glutasyon	Süperoksit giderici
	Ürik asit	Süperoksit ve hidroksil giderici
	Bilirubin	Peroksidasyon zincirini bozar
Demir Redoks Zinciri İnhibitör	Desferoksamin Apotransferrin Seruloplazmin	Serbest Fe ⁺³ atomlarını bağlayarak radikal reaksiyonlarını önler
Endojen savunmayı arttıran ajan	Antinötrofil serumu	GSH-PX aktivitesini artırır
	Monoklonal antibodiler	NL'nin endotele adezyonunu inhibe eder
	Plateler aktive edici faktör	NL'nin adezyonunu inhibe eder

2.6. Deksmetomidin

Deksmetomidin, medetomidinin farmakolojik olarak aktif d-izomeridir. Medetomidin, α_2 reseptörler için selektivitesi olduğu gösterilen oldukça lipofilik bir ajandır. Deksmetomidin çok güçlü ve ileri derecede selektif bir α_2 reseptör agonistidir. Moleküler formülü $C_{13}H_{18}N_2 \cdot HCl$ ve moleküler ağırlığı 236.7'dir (95-98). pH'ı 4.5-7 arasında olan deksetomidin berrak, renksiz, izotonik bir solüsyondur (1,2). Suda tamamen çözünür ve 7.1'lik iyonizasyon sabitine (pKa) sahiptir (Şekil 2).



Şekil 2: Deksetomidin hidroklorürün kimyasal yapısı

Deksetomidin, infüzyonu takiben çok hızlı bir dağılım fazı gösterir. Ortalama dağılım yarı ömrü 6 dakikadır. Eliminasyon yarı ömrü ise yaklaşık iki saattir. Proteinlere bağlanma oranı % 93.7'dir ve bu orana cinsiyet ve renal patolojinin etkisi yoktur. Bununla birlikte hepatik yetmezliklerde bu oran düşüktür. İn vitro olarak CYP2D6' yı inhibe ettiği gösterilmiştir, fakat bu inhibisyonun klinik olarak önemi tam olarak değerlendirilememiştir. Sitokrom P450 ile metabolize olan ilaçlarla çok az etkileşim gösterir.

Deksetomidin yoğun bir şekilde karaciğerde metabolize olur ve %95'i idrar, %4'ü dışkı ile atılır. Temel metabolitleri N-Glukuronid ve N-Metil-O-Glukuronid'dir. Klirensi 39 lt/saattir. Deksetomidinin bilinen aktif metaboliti yoktur.

Sağlıklı erkek gönüllülerde deksmedetomidinin biyoyararlanımı değerlendirilmiş olup peroral, bukkal ve intramusküler uygulama sonrasında biyoyararlanım sırasıyla %16 (%12-20), %82 (%73-92) ve %104 (%96-112) olarak saptanmıştır. İntramusküler uygulamada maksimum konsantrasyona 1.6-1.7 saatte ulaşılmaktadır. Bu süre transdermal uygulamada 6 saattir ve biyoyararlanım %88'dir (99,100).

Adrenerjik reseptörler α_1 ve α_2 reseptörler olarak bütün vücutta yerleşmişlerdir. α_1 reseptörler beyin, kalp, düz kas, karaciğer ve dalakta bulunurken α_2 reseptörler SSS, damar düz kası gibi efektif organlar ve özellikle sempatik sinir sistemi tarafından innerve edilen dokularda yerleşmişlerdir. Yapılan çalışmalar α_2 reseptörlerin α_{2a} , α_{2b} , α_{2c} , α_{2d} subtipleri olduğunu göstermiştir (99). Norepinefrin salınımını regüle eden otoreseptörlerin büyük çoğunluğu α_{2a} alt grubuna aittir. Fonksiyonel α_{2a} alt grubundan yoksun farelerde deksmedetomidinin sedatif, anestezik ve amnezik etkileri görülmez iken α_{2b} ve α_{2c} reseptörlerinin inaktive olduğu hayvanlarda bu cevaplar normal olarak bulunmuştur. Nöroeffektör bileşkede α_1 reseptör agonistlerin bağlanması vazokonstriksiyon, glikojenoliz ve kalp hızında artış ile sonuçlanır. Sempatik sinir uçlarındaki α_2 reseptörlerin presinaptik aktivasyonu katekolamin salınımını engeller. Santral sinir sistemindeki α_2 reseptörlerin postsinaptik aktivasyonu sempatik aktivitenin inhibisyonuna, kan basıncı ve kalp hızında azalmaya, sedasyon ve anksiyolize yol açar. Ayrıca spinal korddaki α_2 reseptörleri agonistlerin etkilemesiyle de analjezi sağlanır. Deksmetomidin, α_1 reseptörlerine oranla spesifik ve selektif olarak α_2 reseptörlerini 1620 kat daha fazla etkilemektedir. Bu oran klonidinde 220'dir (101). Bu da deksmedetomidinin α_2 reseptörler üzerindeki potent selektif etkisini kanıtlamaktadır.

Ancak dopaminerjik, seratonerjik ve muskarinik reseptörler gibi diğer nörotransmitter reseptörlerine affinitesi yoktur.

2.6.1. Santral Sinir Sistemi Etkileri

Sedatif etkilerini santral sinir sisteminde uyanıklığın anahtar modülatörü olarak hizmet eden ve beynin baskın nöradrenerjik nükleusu olan locus

coreuleus'daki postsinaptik α_2 reseptörleri aktive ederek gösterir. Analjezik yanıt ise α_2 agonistlerin nosiseptif yoldaki substans P salınımının bloke edildiği dorsal nöron kökleri düzeyinde gerçekleşmektedir. Bu etkilerin potasyum kanalları aracılığı ile iletimi arttıran inhibitör pertusis toksinine hassas G-proteini aracılığı ile oluşturulduğu sanılmaktadır. Uzun süreli kullanımından sonra tolerans görülebilir. Ancak kısa süreli kullanımlarında tolerans, bağımlılık, addiksiyon ciddi bir problem oluşturmaz (102).

Deksmedetomidin, opioid ajanların hızlı detoksifikasyonunda, kokain kesilme sendromunda kullanılmaktadır (103). Hayvanlardadeksmedetomidin kesilmesi, opioidlerden farklı olarak, hiperaljezi veya allodiniyeneden olmaz (104). Hayvanlarda yapılan inkomplet serebral iskemi ve reperfüzyonçalışmalarında, deksmedetomidinin serebral nekrozu azaltarak nörolojik prognozduzelttiği gösterilmiştir.

Fokal iskemi oluşturulmuş tavşan modellerindedeksmedetomidin ve halotan kombinasyonu, tek basına halotan uygulaması ilekarşılaştırıldığında kombinasyon grubunda daha az kortikal nöron hasarı olduğu görülmüştür (105).Deksmedetomidinin intrakraniyal basınç ve serebral kan akımı üzerine etkileri hakkındaki bilgiler sınırlıdır. α_2 reseptörler serebral vasküler yatakta oldukça geniş yayılım gösterirler ve bu reseptörlerin aktivasyonu spesifik vazokonstriktif yanıtı neden olur. Kortikal kan damarlarında presinaptik α_2 reseptörlerin aktivasyonu norepinefrin salınımını azaltırken, postsinaptik α_2 reseptörlerin aktivasyonu vasküler düz kastaki tonusu arttırabilir. Böylece deksmedetomidin infüzyonu hem direkt olarak vasküler düz kas konstrüksiyonunu tetikler hem de indirekt yoldan santral sempatik aktivitede değişiklikler yapar, bu şekilde serebral metabolik hızı azaltarak serebral kan akımını etkileyebilir.

Gönüllülerde yapılan çalışmalarda, deksmedetomidinin hem 402-530 pg/mL hem de 524-732 pg/mL konsantrasyonlarında serebral kan akımını % 30 azalttığı gösterilmiştir. Bu azalma infüzyonun sonlandırılmasından sonra en az 30 dakika devam etmektedir (106).

Pentobarbital ve izofluran anestezisi uygulanmış köpeklerde lokal uygulanan deksmedetomidinin doza bağlı pial arterlerde vazokonstrüksiyon oluşturduğu gösterilmiştir (107).

Sevofluran ve izofluran anestezisi altındaki köpeklerde, farklı dozlarda deksmedetomidinin (0.5-1 ve 2 µg/kg) izofluran ve sevoflurana bağlı serebral vazodilatasyonu azalttığı ve bu etkinin doz ile ilişkisiz olduğu gösterilmiştir (108).

Hayvan çalışmaları deksmedetomidinin santral noradrenerjik geçisi inhibe ederek epilepsi eşiğini azalttığını göstermiştir (109).

2.6.2. Kardiyovasküler Sisteme Etkisi

α_2 agonistlerin kardiyovasküler sistem üzerindeki temel etkileri; kalp hızı ve sistemik vasküler rezistansta azalma, indirekt olarak da miyokard kontraktilitesi, kardiyak debi ve sistemik kan basıncında azalmadır. Selektif α_2 agonistlerin gelişmesi ile istenen hipnotik analjezik etkiler belirginleşirken istenmeyen kardiyovasküler yan etkiler azaltılmıştır.

Deksmedetomidin analjezi oluşturmada, santral ve periferik mekanizmalarla hemodinamik stresi azaltması ve sedasyon sağlaması nedeniyle kardiyovasküler cerrahide de kullanım alanı bulmaktadır (110).

Deksmedetomidinin bolus uygulamalarında görülen hemodinamik değişiklikler bifaziktir. 2 µg/kg deksmedetomidinin hızlı i.v enjeksiyonu kan basıncında uygulama öncesine göre % 22 artış ve kalp hızında % 27 azalmaya neden olur. Bu değişiklikler enjeksiyondan 5 dakika sonra oluşur. Kan basıncı artışı muhtemelen deksmedetomidinin periferik α_2 reseptörler üzerindeki etkileri ile ilişkilidir.

Kalp hızı 15 dakika sonra başlangıç hızına döner, kan basıncı ise bir saat sonra başlangıç değerinin % 15 altına iner. Benzer dozda deksmedetomidin i.m. uygulandığında başlangıçtaki kan basıncı artışı görülmez, hem kan basıncı hem de kalp hızındaki değişiklikler bazal değerlerden sadece % 10 oranında farklılık gösterir (111). Koroner arter cerrahisinde anestezi indüksiyonundan 30 dk önce 50 ng/kg/dk ve cerrahi bitimine kadar 7 ng/kg/dk deksmedetomidin infüzyonunun kan norepinefrin düzeyini (%90), intraoperatif hipertansiyon insidansını ve fentanil gereksinimini azalttığı gösterilmiştir. Yüksek dozlarda (1 µg/kg ve üzeri) hipertansiyon ve taşikardiye karşı miyokardın enerji gereksinimini azaltmaktadır (110). Revaskülarizasyon sırasında esmolol

tedavisine yanıt vermeyen intraoperatif taşikardi durumunda deksmedetomidin ile kalp atım sayısı azaltılabilmektedir (112).

Kardiyak ve vasküler cerrahide preoperatif, intraoperatif veya postoperatif (ilk 48 saat) klonidin, deksmedetomidin veya mivazerol uygulanarak mortalite, miyokardiyal infarkt oranı, iskemi veya supraventriküler taşikardi değerlendirilmiştir. α_2 adrenerjik agonistler vasküler cerrahide mortalite ve miyokardiyal infarkt oranını, kardiyak cerrahide de iskemi ve buna bağlı mortaliteyi azaltmaktadırlar (113).

Farklı çalışmalarda, deksmedetomidinin hem i.m hem de i.v uygulamalarında nadiren de olsa bradikardi ve sinüs arresti oluşturabileceği gösterilmiştir. Hayvan modellerinde deksmedetomidinin iskemik kalpte oksijen tüketimini azalttığı, akut oklüzyonda kan akımını noniskemik zondan iskemik zona yönlendirdiği gösterilmiştir (114). Koroner iskemi oluşturulan köpekler üzerinde yapılan bir çalışmada, deksmedetomidin kullanımı ile serum laktat düzeyi, kalp hızı ve katekolamin düzeyinde azalma, endokardiyal-epikardiyal kan akım oranında % 35 artma olduğu gösterilmiştir (115).

2.6.3. Solunum Sistemine Etkileri

Deksmedetomidinin solunum sistemi üzerine minimal etkileri vardır, bu solunum depresyonu yapan diğer sedatiflere göre önemli bir avantajdır. Ilımlı hiperkapni ve hipoventilasyon yapabilmektedir, bunun α_2 adrenerjik agonistlerin iyi bilinen merkezi sinir sistemi depresyonu etkisine bağlı olduğu düşünülmüştür (116). Sedatif ve analjeziklerin uygulanmasında solunum depresyonu, sıkça karşılaşılan bir problem olmasına rağmen, deksmedetomidinin tedavi dozlarında solunum depresyonu beklenmez. Bununla birlikte solunum seslerinde azalma, bradipne, dispne, hipoventilasyon ve bronkodilatasyon gözlenebilir. Ebert ve ark'ı (117) spontan soluyan gönüllülerde düşük doz deksmedetomidin kullanıldığında arteriyel oksijenasyon veya pH'da değişiklik olmadığını, yüksek doz kullanıldığında ise PaCO₂ düzeyinin % 20 oranında arttığını göstermişlerdir.

Bununla beraber deksmedetomidin dozunun artması ile solunum sayısında artma olduğu görülmüştür (117).

2.6.4. Endokrin Sisteme Etkileri

Noradrenalin, insülin ve kortizol salınımını azaltırken, büyüme hormonu salınımını artırır (118). Kortizol sentezi üzerine inhibitör etkisi etomidatin etkisine benzer yolla olur (119). Gastrointestinal sistemde hiposalivasyon ve hipomotilitateye yol açar. Üriner sistemde diürece neden olur. İdrar osmolaritesini azaltıp, serbest su klirensini artırır. Serum kreatinini azaltır (120,121).

2.6.5. Renal Sisteme Etkileri

α_2 -adrenerjik agonistlerin önemli avantajlarından biri böbrek işlevlerini koruyucu etkileridir. α_2 reseptör uyarımı diürez ve natriürece neden olur. Vazopressin sekresyonunu azaltır ve onun renal tübüllere etkisini antagonize eder (122). α_2 reseptör uyarımı ayrıca renin salınımını baskılar, bu da afferent arteriolar dilatasyona yol açarak glomerüler filtrasyon hızını artırır. α_2 reseptör uyarımı bunun yanında atrial natriüretik peptid salınımını artırarak da glomerüler filtrasyon hızını artırır (122,123).

2.6.6. Nöroprotektif Etkileri

Deneysel serebral iskemi modellerinde deksmedetomidinin nöroprotektif etkileri olduğu gösterilmiştir. Hipoksik iskemik beyin hasarını azalttığı, beyin hasarı olanlarda da nörolojik işlevsel iyileşmede ciddi gelişme sağladığı bildirilmiştir (124-126). Bu etkinliğin hangi mekanizmayla olduğu net değildir ancak katekolaminlerin salınımı ve serum seviyelerinin bunda önemli rol oynadığı sanılmaktadır. Bununla beraber merkezi ve periferik sinirlerde nörotransmitter salınımını düzenlemesi açıklayıcı olabilir (127,128).

Başka bir çalışmada bu etkiye yol açan α_2 reseptör subtipinin α_{2a} olduğu, fokal serebral iskemide, deksmedetomidin uygulamasının (9 μ g/kg) kortekste infarkt volümünü % 40 azalttığı, bunun yanı sıra minimal hiperglisemi ve hipotansiyon oluşturduğu gözlenmiştir (129).Serebral iskemi sırasında dolaşımdaki katekolaminler azalırken, beyindeki noradrenalin ve glutamat konsantrasyonlarının deksmedetomidinden etkilenmediği de bildirilmiştir (130).

Nöroprotektif etkilerine karşın, deksmedetomidinin muhtemel hipotansif etkisinin özellikle beyin hasarı olan ve kafa içi basıncı yüksek hastalarda yukarıda bahsedilen faydalarının tersine zararlı olabileceği de öne sürülmüştür (131). Deksmetomidinin serebral kan akımı otoregülasyonunu bozduğu ve serebral kan akımını azalttığına dair veriler bulunmuştur (132,133). Deksmetomidin ile yapılan iskemik ve toksik inflamatuvar yanıt modelindeki az sayıda çalışmada ise antiinflamatuvar etkinlik sergilediği belirlenmiştir (134,135).

Taniguchi ve ark'ı (136) sıçanlardaki endotoksine bağlı şok modelinde deksmedetomidinin hemodinamik parametreler, arteriyel kan gazları ve plazma sitokin konsantrasyonları üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında deksmedetomidinin IL-6 ve TNF- α düzeyini azaltarak inflamatuvar yanıtları inhibe ettiğini, alveol duvarlarında nötrofil infiltrasyonunu ve mortalite oranlarını azalttığını göstermişlerdir.

Venn ve ark'ı (134) majör cerrahi sonrası yoğun bakım ünitesinde izlenen ve postoperatif dönemde 8 saat süreyle sedasyon amacıyla propofol veya deksmedetomidin uygulanan 20 hastada adrenokortikal fonksiyonları, kardiyovasküler, endokrin ve inflamatuvar yanıtları incelemişlerdir. Deksmetomidin uygulanan grupta IL-6 düzeyinin azaldığı adrenokortikotropik hormon, prolaktin, kortizol ve glukoz düzeyleri açısından iki grup arasında fark olmadığını saptamışlardır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulunun 2010/51 numara ile izni alındıktan sonra, İnönü Üniversitesi Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmada toplam 40 adet ağırlıkları 250-350 g arasında değişen Sprague-Dawley genç, erkek rat kullanıldı.

Deney hayvanları deney süresince 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ışıklandırması olan, ısı ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) ve nemi (%45-50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatıldı. Deney sürecinde tüm ratlar polikarbonat şeffaf kafeslerde standart pellet yem ile beslendi ve her gün taze çeşme suyu verildi. Ratlar randomize olarak 10'arlı 4 gruba ayrıldı.

Grup 1; kontrol grubu

Grup 2; iskemi-reperfüzyon grubu

Grup 3; iskemi-reperfüzyon+10µg/kg deksmedetomidin grubu

Grup 4; iskemi-reperfüzyon+100 µg/kg deksmedetomidin grubu

Deneyimizde: Deksmetomidin (Precedex, Abbot Laboratories Ltd.North Chicago ABD) %0.9 sodyum klorür ile seyreltilerek kullanılacak dozları hazırlandı.

Tüm cerrahi işlemler; steril ortamda ve steril cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirildi. Diüurnal hormonal değişimlerin ratlar üzerine olası etkileri dikkate alınarak tüm cerrahi işlemler 09:00 ile 12:00 saatleri arasında yapıldı. Deney hayvanlarına intraperitoneal (i.p) yol ile 1.2 g/kg uretan anestezisi uygulandı.

Tüm gruplarda deney hayvanı, sırt üstü pozisyonda, sıcaklığı ılık ve sabit olan diseksiyon tablasına tespit edildi. Cerrahi uygulama bölgesinin %70'lik etil

alkol ile temizliği yapıldı ve deney hayvanının karın bölgesinde vücuda paralel 3-4 cm'lik bir orta hat kesisi ile laparotomi gerçekleştirildi. Grup 1'de oklüzyon uygulanmadan karaciğer diğerk gruplara benzer şekilde manipüle edildi. Grup 2'de laparotomi sonrasında segmental (%70) hepatik ılık iskemi modeli kullanıldı (137). Bu modele göre sol ve median karaciğer loblarının portal tiradındaki tüm yapılar (hepatik arter, portal ven ve safra kanalı) açığa çıkarılarak antitravmatik mikrovasküler klemp yardımıyla 60 dakika süre ile kan akışı durduruldu. 60 dakika süren iskeminin hemen ardından antitravmatik mikrovasküler klemp açılarak dokuya tekrar kan akışının sağlanması yani reperfüzyon işlemi gerçekleştirildi.

İskemiden 30 dakika önce deksmedetomidin Grup 3'e 10 µg/kg, Grup 4'e 100 µg/kg dozunda periton içine (i.p) uygulandı. Laparotomi gerçekleştirildikten sonra her iki gruba da Grup 2'deki işlemler gerçekleştirildi. 60 dakikareperfüzyon işleminin ardından; deney hayvanları kalpten kanatılarak sakrifiye edildi. Çıkarılan karaciğer dokuları alüminyum folyoya sarılarak biyokimyasal analizler yapılncaya kadar 80°C'de derin dondurucuda saklandı.

3.1. Analizler

GSH ve MDA seviyeleri doku homojenatlarında; SOD, KAT ve GSH-Px enzim aktiviteleri süpernatanda ölçüldü. Protein miktarı ise enzim aktivitelerinin ölçüldüğü süpernatanda ölçüldü.

3.2. Dokuların Biyokimyasal Analizlere Hazırlanması

Derin dondurucuda saklanan karaciğer dokuları analiz günü çıkarılarak tartıldı. Soğuk serum fizyolojik (SF) ile dokular yıkandı. Makas ile küçük parçalara ayrılarak homojenize edilmek üzere cam tüplere konulan dokulara 2 ml Tris-HCl (pH=7,4) tamponu eklendi. Buz doldurulmuş plastik kap içersine yerleştirilen cam tüpteki doku 16.000 devir/dk hızda 3 dakika homojenize edildi (IKA, Germany). Son hacim Tris-HCl tamponuyla 5 ml'ye tamamlandı. Karıştırıldıktan sonra homojenatın bir kısmı GSH ve MDA ölçümü için ependorf

tüplerine aktarılırken, bir kısmı GSH-Px enzim aktivitesi ölçümü için 3220 rpm'de ve +4°C sıcaklıkta 30 dakika santrifüj edildi. Geriye kalanı da KAT enzim aktivitesi ölçümü için 10 sn süreyle 3 kez santrifüj edildikten sonra aynı şekilde santrifüj edildi. Elde edilen süpernatanlardan SOD, GSH-Px ve KAT enzim aktiviteleri ölçümü yapıldı.

3.3. Analizlerin Yapılması

3.3.1. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi Ölçümü

Süperoksit dismutaz aktivitesi Sun ve arkadaşlarının metoduna göre tayin edildi (138). Bu metotta SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksidin nitrobluetetrazolium'u (NBT) indirgemesiyle ölçülmektedir. Oluşan süperoksit radikalleri NBT'yi indirgeyerek renk değişikliğine neden olur. Oluşan bu renk 560 nm'de maksimum absorbans verir. Ortamda SOD enzimi bulunması halinde NBT indirgenmesi gerçekleşmeyip, enzim miktarı ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır. Enzimin bulunmadığı ortamda ise bu indirgeme meydana gelip mavi-mor renk oluşmaktadır. Bir Ü SOD, NBT redüksiyonunu %50 inhibe eden enzim aktivitesidir. Sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi.

3.3.2. Katalaz Enzim Aktivitesi Ölçümü

Katalaz aktivitesi Aebi'nin yöntemine göre ölçüldü (139). Deneyin prensibi H₂O₂'nin parçalanma hız sabitinin (K) tayinine dayanmaktadır. Deney ortamına eklenen H₂O₂, KAT enzimi tarafından su ve oksijene parçalanır. Bu reaksiyon UV spektrofotometrede absorbans azalması şeklinde ortaya çıkar. Absorbansdaki bu azalma KAT enzim aktivitesiyle doğru orantılıdır. Aktiviteler K/g protein olarak ifade edildi.

3.3.3. Glutatyon Peroksidaz Enzim Aktivitesi Ölçümü

Glutatyon peroksidaz aktivitesi Paglia ve arkadaşlarının metoduna göre ölçüldü (140). Metod, ortamda bulunan NADPH'ın enzim aktivitesiyle ortamdan uzaklaştırılması sonucu 340 nm'de absorbansın azalması prensibine dayanmaktadır. GSH-Px enzim aktivitesi U/mg protein olarak ifade edildi.

3.3.4. Malondialdehit Miktarının Ölçümü

Uchiyama ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı (141). Metodun prensibi; MDA'nın 95°C'de tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan pembe renkli ürünün N-butanol fazından ekstrakte edilen süpernatanın spektrofotometre ile 535 ve 520 nm'de ölçülmesine dayanmaktadır. Sonuçlar nmol/g doku olarak ifade edildi.

3.3.5. Protein Ölçümü

Modifiye Lowry yöntemi ile ölçüm yapıldı (142,143). Metodun prensibi; alkali çözeltide bakır-protein kompleksi oluşarak Folin-Ciocalteu-Phenol reaktifini indirgemesi ve koyu mavi bir renk oluşturmaya bağlıdır. Rengin koyuluğu ile ortamdaki protein konsantrasyonu doğru orantılıdır. Sonuçlar hesaplanıp µg/ml olarak diğer enzim aktivitelerinin belirlenmesinde kullanıldı.

3.3.6. Glutatyon Ölçümü

Glutatyon ölçümü Ellman'ın metoduna göre yapıldı (144). Homojenatlar % 10' luk trikloroasetik asit solüsyonuyla karıştırılıp 4000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. Böylece proteinlerden ayrıştırılmış ekstrakt elde edilmiş oldu. Proteinsiz ekstrakta 0.3 molarlık disodyum fosfat solüsyonu eklendi. Sonrasında ise sodyumsitrat ve 5.5 - dithiobis-2-nitrobenzoik asit ile hazırlanan solüsyon eklendi. Spektrofotometrede 410 nm dalga boyunda okunarak kaydedildi. Sonuçlar nmol/g doku olarak ifade edildi.

3.4. Verilerin İstatistiksel Analizi

İstatiksel değerlendirmeler Windows uyumlu SPSS®15.0 bilgisayar programı ile yapıldı. Grupların dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile analiz edildi. Gruplar SOD, CAT, GSH-Px ve GSH parametreleri yönünden normal dağılım gösterdiğinden One-Way ANOVA testi; posthoc testlerden CAT için Tamhane 2 testi; SOD, GSH-Px ve GSH için Tukey testi uygulandı. Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi.

MDA yönünden normal dağılıma uyulmadığından dolayı Kruskal-Wallis ve posthoc olarak Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi yapıldı. Değerler ortanca (minimum-maksimum) şeklinde ifade edildi. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda elde edilen tüm sonuçlar Tablo 5’de, istatistiksel olarak p değerleri ise Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 5: Karaciğer dokusunda MDA, SOD, KAT, GSH-Px ve GSH düzeyleri [ortanca (min-maks), ortalama $\pm$ SD].

Gruplar	n	MDA nmol/g doku	SOD U/mg protein	KAT K/g protein	GSH nmol/g doku	GSH-Px U/mg protein
1	10	34,79 (21,49-42,01)	30,87 $\pm$ 6,47	191,91 $\pm$ 32,92	593,13 $\pm$ 40,83	270,30 $\pm$ 39,02
2	10	51,49 (47,60-63,74)	21,16 $\pm$ 4,59	132,04 $\pm$ 33,07	492,03 $\pm$ 69,43	174,91 $\pm$ 27,76
3	10	42,74 (35,91-45,82)	24,77 $\pm$ 5,40	176,03 $\pm$ 64,61	569,66 $\pm$ 71,13	160,85 $\pm$ 33,95
4	10	38,89 (25,62-48,95)	29,74 $\pm$ 3,82	220,54 $\pm$ 34,06	592,19 $\pm$ 30,89	224,04 $\pm$ 62,88

Tablo 6: Karaciğer dokusunda MDA, SOD, KAT, GS-Px ve GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmalardaki p değerleri. AD: anlamlı değil

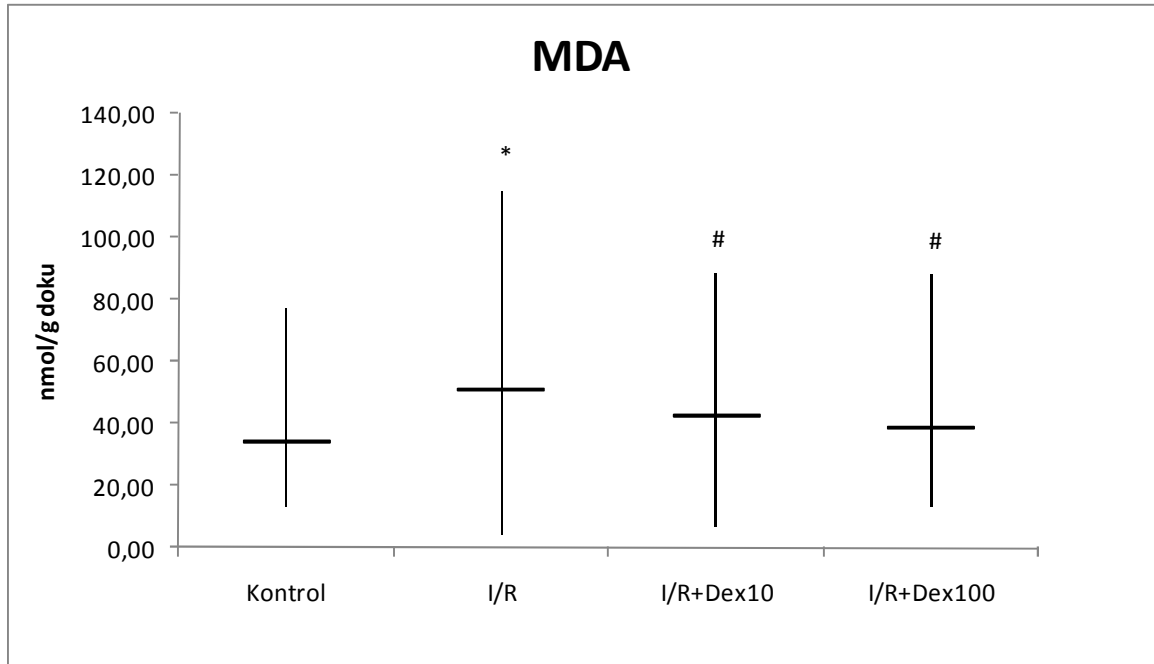
Karşılaştırılan gruplar	MDA nmol/g doku	SOD U/mg protein	KAT K/g protein	GSH nmol/g	GSH-Px U/mg protein
1-2	0,001	0,001	0,027	0,014	0,001
1-3	AD	AD	AD	AD	0,001
1-4	AD	AD	AD	AD	AD
2-3	0,001	AD	AD	0,050	AD
2-4	0,001	0,001	0,001	0,006	AD
3-4	AD	AD	AD	AD	0,014

4.1. Deksmetomidinin KC dokusunda MDA aktivitesi üzerine etkisi

İskemi reperfüzyon sonrası gruplar arasındaki MDA aktivitesi grafik 1' de ve tablo 6'da gösterilmiştir.

Doku MDA düzeyi Grup 1 ile kıyaslandığında Grup 2'de istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$).Grup 3 ve 4'de ise Grup 1'e göre anlamlı bir değişim olmadı.

Deksmetomidin uygulanan gruplar (Grup 3 ve 4), İR grubu(Grup 2) ile kıyaslandığında MDA düzeylerinde düşüş anlamlı idi ($p<0.05$).Deksmetomidin uygulanan gruplar arasında ise fark yoktu.



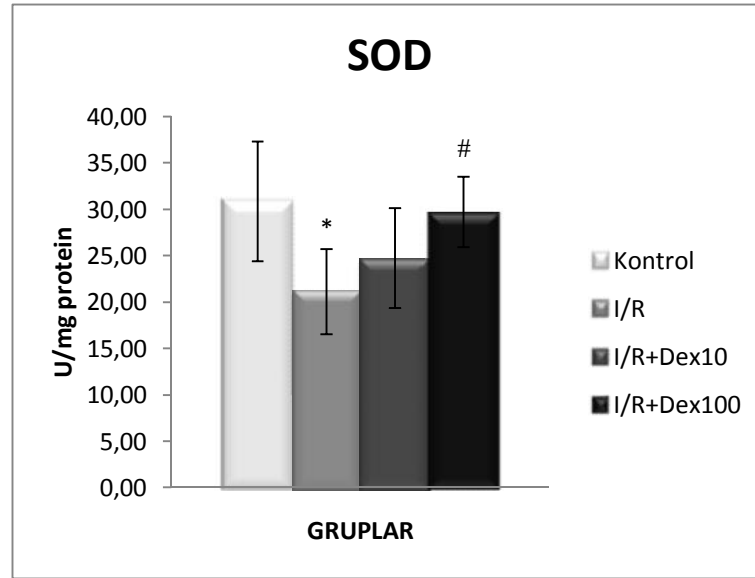
Grafik 1: Gruplardaki MDA düzeyleri.*: Kontrol grubuna göre $p<0.05$, #:İR grubuna göre $p<0.05$

4.2. Deksmetomidinin KC dokusunda SOD aktivitesi üzerine etkisi

İskemi reperfüzyon sonrası gruplar arasındaki SOD aktivitesi tablo 6'da ve Grafik2'de gösterilmiştir. Doku SOD düzeyi Grup 1 ile kıyaslandığında Grup 2'de istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p<0.05$).Grup 3 ve 4'de ise Grup 1'e göre anlamlı bir değişim olmadı.

Deksmedetomidin uygulanan gruplar (Grup 3 ve 4), Grup 2 ile kıyaslandığında, Grup 4'de SOD düzeyindeki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0.05$). Grup 3'de SOD düzeyinde Grup 2'ye göre artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadı.

Deksmedetomidin uygulanan gruplar arasında ise doku SOD düzeyi açısından fark yoktu.



Grafik 2: Gruplardaki SOD düzeyleri*: Kontrol grubuna göre $p<0.05$, #:İR grubuna göre $p<0.05$

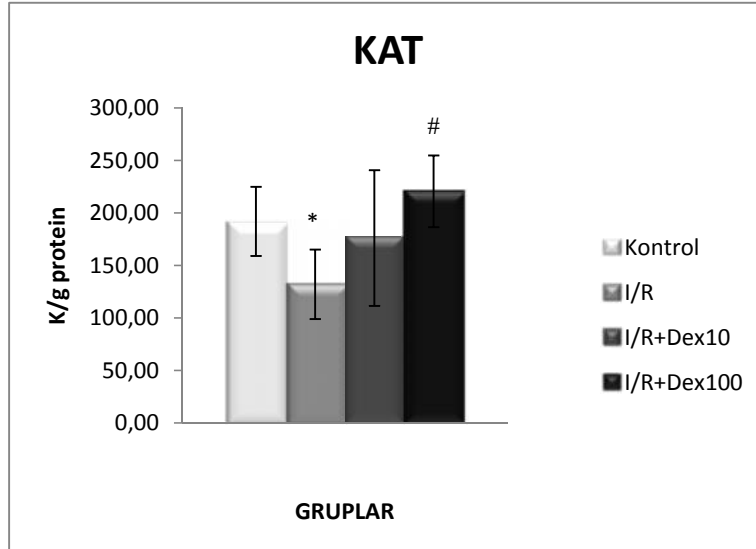
4.3. Deksmetomidinin KC dokusunda KAT aktivitesi üzerine etkisi

İskemi reperfüzyon sonrası gruplar arasındaki KAT aktivitesi grafik 3'de ve tablo 6' da gösterilmiştir.

Doku KAT düzeyi Grup 1 ile kıyaslandığında Grup 2'de istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p<0.05$). Grup 3 ve 4'de ise Grup 1'e göre anlamlı bir değişim olmadı.

İlaç uygulanan gruplar (Grup 3 ve 4), İR grubu (Grup 2) ile kıyaslandığında, Grup 4'de KAT aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu görüldü ($p<0.05$). Grup 3'de Grup 2'ye göre artış olmasına rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadı.

Grup 3 ve 4 arasında doku KAT aktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmadığı görüldü ($p>0.05$).



Grafik 3: Gruplardaki KAT düzeyleri*: Kontrol grubuna göre $p<0.05$, #:İR grubuna göre $p<0.05$

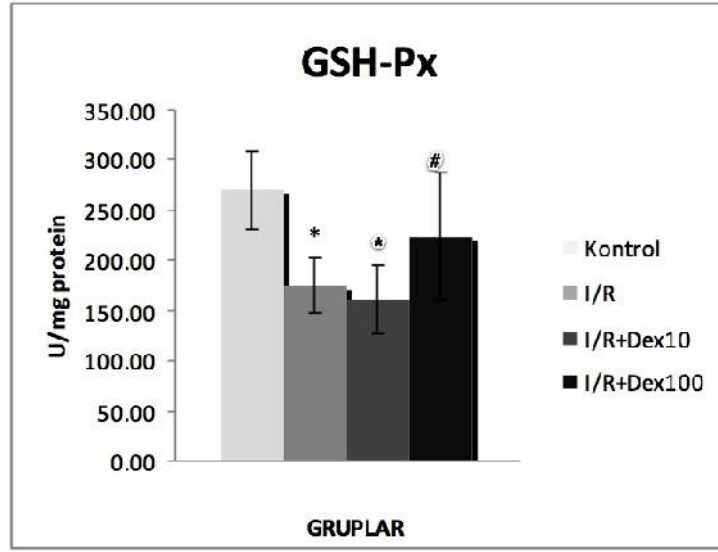
4.4. Deksmetomidinin KC dokusunda GSH-Px aktivitesi üzerine etkisi

İskemi reperfüzyon sonrası gruplar arasındaki GSH-Px aktivitesi Grafik 4'de ve tablo 6'da gösterilmiştir.

Doku GSH-Px düzeyi Grup 1 ile kıyaslandığında Grup 2'de anlamlı düşük bulundu ($p<0.05$). Grup 3'de de Grup 1'e kıyasla GSH-Px düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düşük idi ($p<0.05$). Grup 4'de ise Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadı.

Grup 4'de Grup 2'ye göre GSH-Px aktivitesinde artış olmasına rağmen istatistiksel anlamlı düzeye ulaşmadı. Grup 3 ile Grup 2 arasında da GSH-Px aktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

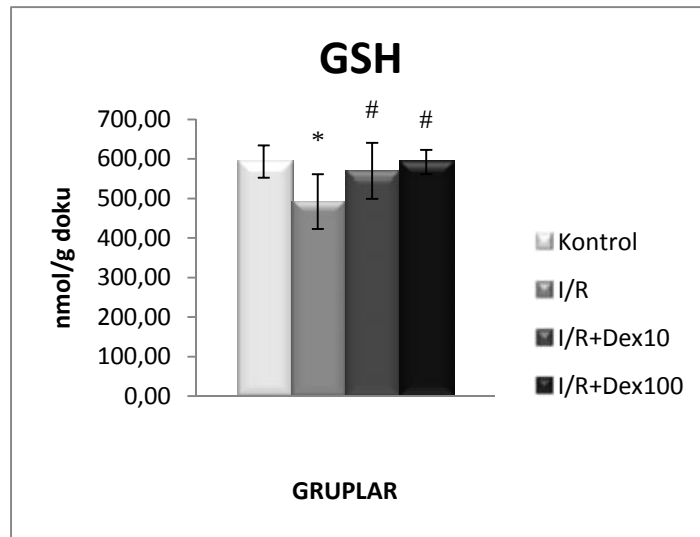
Grup 3 ve 4 arasında ise GSH-Px aktivitesi açısından istatistiksel anlamlı fark vardı ($p<0.05$).



Grafik 4: Graplardaki GSH-Px düzeyleri, *:Kontrol grubuna göre $p < 0.05$, #:Grup 3'e göre $p < 0.05$.

4.5. Deksmetomidinin KC dokusunda GSH aktivitesi üzerine etkisi

İskemi reperfüzyon sonrası gruplar arasındaki GSH aktivitesi grafik 5 ve tablo 6'da gösterilmiştir. KC dokusundaki GSH düzeyi kontrol grubu (Grup 1) ile kıyaslandığında İR (Grup 2) grubunda istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. Grup 3 ve 4'de ise kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik olmadı. Deksmetomidinin uygulanan her iki grup (Grup 3 ve 4) İR grubu (Grup 2) ile kıyaslandığında doku GSH düzeylerinde anlamlı artış saptandı ($p < 0.05$). Grup 3 ve Grup 4 arasında ise doku GSH aktivitesi açısından anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$).



Grafik5: Graplardaki GSH düzeyleri *: Kontrol grubuna göre $p < 0.05$, #: İR grubuna göre $p < 0.05$

5. TARTIŞMA

Bu araştırma ile deksmedetomidinin hem 10 µg/kg hem de 100 µg/kg dozlarında karaciğeri İR hasarına karşı koruyucu etkisinin olabileceği gösterilmiştir. Karaciğerin İR hasarı bir çok klinik tabloda karşımıza çıkabilen bir durumdur. Ancak donör hepatektomide bilinçli yapılan bir uygulamadır.

Donör hepatektomi, hem majör bir cerrahi olması hem de operasyon yapılan kişinin sağlık problemi olmayan, gönüllü donör olması nedeniyle özellik arzeden bir operasyondur. Donör komplikasyonunun minimumda tutulması birinci önceliktir. KC'e ait bu tür majör cerrahi sırasında biri intraopertif diğeri postoperatif dönemde karşımıza çıkabilen iki çok önemli durum vardır: intraoperatif kanama ve postoperatif KC yetmezliği.

Intraoperatif kanama, morbidite artışına hatta mortaliteye neden olabilen önemli bir komplikasyondur (8). Bu komplikasyonu önlemek ya da en aza indirmek için günümüzde en sık yapılan işlem Pringle manevrası adı verilen operasyon sırasında karaciğerin vasküler izolasyonudur (18). Bu manevra ile tüm karaciğer kan akımı geçici de olsa kesintiye uğramakta yani KC'i iskemiye maruz bırakmaktadır. İskemi süresi kişisel tercihe bağlı olarak değişmekle birlikte 60 dakikanın üzerine çıkmaması genel kabul görmüş bir yaklaşımdır. Bu sürenin sonunda izolasyon sona erer ve kan akımı yeniden başlar. Bu durum ise iskemiden daha zararlı etkilere yol açan reperfüzyona neden olur. İskeminin zararlı etkileri iskemi sırasında oluşmakla birlikte, daha büyük hasarın reperfüzyon sonrasında geliştiği gösterilmiştir (145). Bu olayların tümü İR hasarı olarak anılır.

İR hasarı, hepatik doku ve hücrelerde bir seri olaylara ve sonuçta da hepatik hasara veya mevcut hasarın artışına sebep olabilir. Bu durum tamamen sağlıklı olup toplam KC kütlesinin %65-70'ini bağışlayan donörlerde hayati bir öneme sahip olabilir. Hatta benzer olaylar nakil yapılan hastaların prognozunu, operasyonun başarısını hatta yaşam süresini etkileyen temel faktörlerden biridir (137).İR hasarı, karaciğer nakli sonrası kötü fonksiyon gören greftin yaygın görülen bir sebebidir (146).

Karaciğer İR hasarı Kupffer hücre aktivasyonu, SOR üretimi, nötrofil infiltrasyonu, adezyonmolekülleri artışı, sitokin salınımı, hepatosit hasarı ve sinuzoidal endotelial hücrelerin ayrılması gibi süreçlere bağlıdır. Bu hasarın mekanizması tam olarak açıklanamamıştır; ancak kanıtlar hasarda anahtar rolün SOR olduğuna işaret etmektedir (147). SOR, DNA, protein ve membran lipidlerinde çok ciddi hasara neden olmaktadır (8).

Serbest radikallerin zararlı etkileri, hücre içi bazı maddeler tarafından azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılır. Hücre içinde oksijenin metabolize edildiği her yerde, antioksidanlar, oksijen ara metabolitlerini azaltmak için çalışırlar. Antioksidan savunmada öncelikle etkili olanlar enzimatik antioksidanlardır. Bunlar GSH-Px,SOD, KAT ve GSH gibi enzimlerdir (8).

GSH-Px mekanizması çok önemli antioksidan savunma mekanizmalarından biridir (148). GSH-Px aktivitesindeki azalma H_2O_2 düzeylerinin yükselmesine ve dolayısı ile hücre hasarına neden olmaktadır (149).Uzun dönem İR sonrasında çeşitli dokularda SOD ve KAT gibi antioksidan enzimlerin düştüğü gösterilmiştir. SOD superoksit anyonunun hidrojen peroksit dismutasyonunu katalize eder. KAT ise hidrojen peroksiti suya metabolize eder.

İskemi reperfüzyon hasarı sonucu oluşan SOR'un olumsuz etkilediği yapılarından biri de lipidlerdir. SOR lipid peroksidasyonuna neden olur. Lipid peroksidasyonu da membran hasarına, iyon geçirgenliği ve enzim aktivitesinin değişimine ve hücre ölümüne sebep olur.Aynı zamanda inflamatuvar olaylar başlar ve hasarın şiddeti oldukça artar.Lipid peroksidasyonunun ürünü olan MDA oksidatif hasarın dolaylı bir göstergesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (150).

Çalışmamızda tüm deney gruplarında MDA, SOD, KAT, GSH ve GSH-Px düzeyleri kontrol grubu ile kıyaslandığında İR grubunda, hasarın göstergeleri olarak anlamlı derecede farklı bulundu. Ratlarda karaciğer iskemi reperfüzyon hasarına deksmedetomidinin etkisini araştırdığımız çalışmamızda İR grubu ile karşılaştırıldığında GSH-Px aktivitesi açısından deksmedetomidinin 100 µg/kg verildiği grupta artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadı. Yine aynı grupta, SOD ve KAT düzeyindeki artış anlamlı iken, deksmedetomidin 10 µg/kg grubundaki artış anlamlı düzeye ulaşmadı. Deksmmedetomidin 100 µg/kg grubunda doku GSH düzeylerinde anlamlı artış saptandı, deksmedetomidin 10 µg/kg grubunda GSH düzeylerinde artış vardı ancak anlamlı seviyeye ulaşmadı. MDA düzeyleri açısından Deksmmedetomidin 10 µg/kg ve 100 µg/kg gruplarında anlamlı azalma vardı ($p<0.05$).

Karaciğer İR hasarında inflamatuvar olayların da önemli rol oynadığı, İR hasarının aynı zamanda proinflamatuvar bir olay olduğu bilinmektedir (151).

Deksmmedetomidin, IL-6 ve TNF- α düzeyini azaltarak inflamatuvar yanıtları inhibe eder, sitokin üretimini, alveol duvarlarında nötrofil infiltrasyonunu ve morbidite oranlarını azaltır.

Hayvanlarda yapılan serebral iskemi ve reperfüzyon çalışmalarında, deksmedetomidinin serebral nekrozu azaltarak nörolojik prognozu düzelttiği gösterilmiştir. Fokal iskemi oluşturulmuş tavşan modellerinde deksmedetomidin ve halotan kombinasyonu, tek başına halotan uygulaması ile karşılaştırıldığında kombinasyon grubunda daha az kortikal nöron hasarı olduğu görülmüştür (105). Deksmmedetomidinin nöroprotektif etki mekanizmasında presinaptik α_2 reseptörlerin aktivasyonu ile katekolamin salınımının inhibisyonu ve NMDA reseptör aracılı iyon kanallarının inhibisyonu sorumlu gösterilmektedir (152).

Engelhard ve ark'ı (152) çalışmalarında deksmedetomidinin anti-apoptotik proteinleri artırdığını bildirmektedir. Ayoğlu ve ark'ı (153) deksmedetomidinin doza bağlı olarak subaraknoid hemorajiyi takiben gelişen vazokonstriksiyon ve oksidatif hasarı azalttığını göstermişlerdir

Güçlü bir alfa 2 agonist olan deksmedetomidin, benzer koruyucu etkiyi böbrekte de gösterir. Gu ve ark (154) farelerle yaptıkları bir araştırmada, hem profilaksi ve hem de tedavi amaçlı verilen 25 µg/kg deksmedetomidinin, İR grubuna oranla, hasarı %50'ye varan oranlarda azaltırken, hücre ölümünde

%70'lere varan düşme saptamıştır. KC'dekine benzer şekilde İR hasarı sonrasında görülen renal disfonksiyonun şiddeti, deksmedetomidin profilaksisi sonrasında anlamlı derecede azalmıştır. Bundan başka, İR hasarı öncesinde veya sonrasında deksmedetomidin verilmesi üre ve kreatinindeki yükselişin anlamlı derecede hafiflediğini belirtmiştir. Daha da önemlisi, İR öncesi ve sonrasında deksmedetomidin ile tedavi edilen ratların %60'ında survivalde uzama dikkati çekmektedir.

Deksmedetomidinin serebral ve renal etkisi, KC'de de kendini göstermektedir. Sezer ve ark'ının (155) ratlarda deneysel olarak geliştirdikleri sepsis modelinde deksmedetomidinin lokal veya sistemik inflamasyona bağlı KC hasarını hafifletilebileceği böylece karaciğer organ işlev bozukluğunu engelleyebileceği gösterilmiştir.

Zhou ve ark'ı da (156) norepinefrinin Kupffer hücrelerinde α_2 adrenerjik yolak vasıtasıyla TNF- α 'yı artırdığını göstermiştir. Deksmedetomidin de çok güçlü α_2 reseptör agonisti olduğundan presinaptik α_2 reseptörlerin aktivasyonu ile katekolamin salınımını inhibe ederek bu yolak üzerinden karaciğer iskemi reperfüzyon hasarını önüyor olabilir.

Sonuç olarak, ratlarda yapılan deneysel karaciğer iskemireperfüzyonmodelinde deksmedetomidindoza bağlı olarak karaciğer oksidatif hasarını azaltmıştır. Araştırmamızın sonuçları, deksmedetomidinin karaciğer iskemi reperfüzyonhasarındaki muhtemel koruyucu rolünün daha geniş deneysel ve klinik çalışmalarladesteklenmesi gerektiği kanaatini doğurmuştur.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu deneysel çalışmada rat karaciğer iskemi-reperfüzyon modelinde, 10 µg/kg ve 100 µg/kg deksmedetomidinin iskemik karaciğer hasarı üzerine etkileri, MDA, SOD, KAT, GSH, GSH-Px ile değerlendirilmiştir.

Karaciğer İR hasarı oksidatif strese neden olur. MDA düzeyini artar; SOD, KAT, GSH ve GSH-Px enzim aktivitelerini azaltır.

Çalışmamızda deksmedetomidinin her iki dozu da İR hasarını azaltmakla birlikte 100 µg/kg'lık dozu daha etkindir.

Karaciğer İR hasarının klinik tedavisinde deksmedetomidin uygulaması karaciğer hasarını azaltabilir.

Deksmedetomidinin karaciğer İR hasarına karşı koruyucu etki mekanizmalarının açığa çıkarılması için ileri çalışmaların yapılması uygun olacaktır.

7. ÖZET

Amaç: Karaciğer İR hasarı hepatik doku ve hücrelerde bir seri hasara sebep olabilir. Bu da hastaların prognozunu, operasyonun başarısını etkileyen temel faktörlerden biridir. Karaciğer nakli sonrası kötü fonksiyon gören greftin yaygın görülen bir sebebidir. İskemi-reperfüzyon hasarının mekanizması tam olarak açıklanamamıştır ancak kanıtlar hasarda anahtar rolün serbest oksijen radikalleri olduğuna işaret etmektedir.

Deksmedetomidin çok güçlü ve ileri derecede selektif bir α_2 reseptör agonistidir. Artan klinik kullanımına karşın karaciğer iskemi reperfüzyon hasarına karşı deksmedetomidinin etkileri bilinmemektedir.

Çalışmamızda ratlarda, karaciğer İR ile oluşturulan oksidatif hasara karşı deksmedetomidinin koruyucu etkisi olup olmadığını inceledik.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 40 adet ağırlıkları 250-350 g arasında değişen Sprague-Dawley genç, erkek rat randomize olarak 10'arlı 4 gruba ayrıldı.

Grup 1: Batın açıldı ancak oklüzyon uygulanmadı.

Grup 2: Batın açıldıktan sonra segmental hepatik iskemi modeli ile 60 dakika iskemi ve 60 dakika reperfüzyon uygulandı.

Grup 3: İskemiden 30 dakika önce deksmedetomidin 10 µg/kg periton içine (ip) uygulandı.

Grup 4: İskemiden 30 dakika önce deksmedetomidin 100 µg/kg i.p uygulandı.

Deney tamamlandıktan sonra ratlar kalpten kanatılarak kurban edildi. Çıkarılan karaciğer dokuları alüminyum folyoya sarılarak biyokimyasal analizler yapılınca kadar -80°C'de derin dondurucuda saklandı.

Bulgular: Doku MDA düzeyi Grup 1'e göre Grup 2'de anlamlı yüksek idi ($p<0.05$). Grup 2'ye göre Grup 3 ve 4'te MDA düzeylerinde ki düşüş anlamlı idi ($p<0.05$).

Doku SOD ve KAT düzeyleri Grup 1'e göre Grup 2'de anlamlı düşük bulundu ($p<0.05$). Grup 2'ye göre Grup 4'de anlamlı artış olduğu görüldü ($p<0.05$).

Karaciğer dokusundaki GSH düzeyi Grup 1'e göre Grup 2'de anlamlı düşük bulundu ($p<0.05$). Grup 2'ye göre Grup 3 ve 4'de GSH düzeylerinde anlamlı artış saptandı ($p<0.05$).

Doku GSH-Px düzeyi Grup 1'e göre Grup 2 ve Grup 3'de anlamlı düşük bulundu ($p<0.05$). Grup 3 ve 4 arasında da GSH-Px aktivitesi açısından anlamlı fark vardı ($p<0.05$).

Sonuç: Ratlarda yapılan deneysel karaciğer İR modelinde deksmedetomidinin doza bağlı olarak karaciğer oksidatif hasarını azalttığı görülmüştür. Araştırmamızın sonuçları, deksmedetomidinin karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarındaki muhtemel koruyucu rolünün daha geniş deneysel ve klinik çalışmalarla desteklenmesi gerektiği kanaatini doğurmuştur.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer, iskemi-reperfüzyon, hasar, deksmedetomidin.

8. SUMMARY

Aim: The IR injury of liver may cause a series of damage to hepatic tissue and cells. It is one of the factors which can affect the prognosis of the patients and the success of the operation. The IR injury of liver is a frequent cause of poor graft function in the postoperative period. The mechanism of the ischemia-reperfusion injury has not been fully explained; however, the evidence shows that free oxygen radicals have the key role in the injury.

Dexmedetomidine is a very strong and a highly selective α_2 receptor agonist. Its effects against the reperfusion injury have not known despite increasing clinical use of this agent.

The aim of this study was to evaluate the protective effects of dexmedetomidine against oxidative injury resulted from liver IR in rats.

Materials and Methods: 40 Sprague-Dawley young, male rats weighing between 250 and 350 g were randomly separated into four groups, including 10 in the each group.

Group 1: The abdomen was opened but hepatic portal occlusion wasn't applied.

Group 2: After the abdomen was opened, 60 minutes ischemia and 60 minutes reperfusion were applied through segmental hepatic ischemia model.

Group 3: 30 minutes before the ischemia, dexmedetomidine 10 $\mu\text{g/kg}$ was applied into peritoneal cavity.

Group 4: 30 minutes before the ischemia, dexmedetomidine 100 $\mu\text{g/kg}$ was applied into peritoneal cavity.

After the experiment was completed, the rats were sacrificed by making them bleed. The extracted livers were kept in the deep-freezer in -80 °C by wrapping them in an aluminum foil.

Results: Tissue MDA level was significantly high in Group 2 than Group 1 ($p<0.05$). The decrease in Groups 3 and 4 was significant than Group 2 ($p<0.05$).

Tissue SOD and KAT levels was detected low in Group 2 than Group 1 ($p<0.05$). There was a significant increase in Group 4 than Group 2 ($p<0.05$).

The GSH level in the liver tissue was significantly lower in Group 2 than when compared with Group 1 ($p<0.05$). There was a significant increase in GSH levels in Groups 3 and 4 than Group 2 ($p<0.05$).

Tissue GSH-Px level was detected significantly low in Groups 2 and 3 when compared with Group 1 ($p<0.05$). There was a significant difference between Group 3 and 4 in the terms of GSH-Px activity ($p<0.05$).

Conclusion: In the liver ischemia reperfusion model carried out in the rats, it was concluded that dexmedetomidine was decreased the liver oxidation depending on the dose. The results of this study indicate the potential role of the dexmedetomidine in the protection of reperfusion damage of the liver ischemia and this must be supported by means of detailed experimental and clinical studies.

Key Words: Liver, ischemia-reperfusion, injury, dexmedetomidine

9. KAYNAKLAR

1. Majino G, Jorris I. Apopitosis, oncosis, and necrosis. An overview of the cell death. Am J Pathol 1995; 146: 3-9.
2. Zhang W, Wang M, Xie HY, Zhou L, et al. Role of Reactive Oxygen species in mediating hepatic ischemia-reperfusion injury and its therapeutic applications in liver transplantation. Transplant proceed 2007; 39: 1332-1337.
3. Morisue A, Wakabayashi G, Shimazu M, Tanabe M, et al. The Role Of Nitric Oxide After A Short Period Of Liver Ischemia–Reperfusion, Journal Of Surgical Research, 2003; 109: 101–109.
4. Hall JE, Uhrich TD, Barney JA, Arain SR, Ebert TJ. Sedative, amnestic and analgesic properties of small-dose dexmedetomidine infusions. Anesth Analg. 2000; 90: 699-705.
5. Şahin E, Olguner Ç, Bodur HA, ve ark. Uzak ve Doğrudan İskemik Ön koşullamanın Karaciğerin Reperfüzyon Hasarı Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2009; 29: 381-387.
6. Carden DL, Granger D. N. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. J. Pathology 2000; 190: 255-266.
7. Peralta C, Fern´andez L, Pan´es J, et al. Preconditioning protects against systemic disorders associated with hepatic ischemia-reperfusion through blockade of Tumor necrosis factor–induced P-selectin up-regulation in the rat. Hepatology 2001; 33: 100–113.
8. Baykara B, Tekmen I. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı. DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi 2005; 19: 185-194.

9. Huang SS, Wei FC, Hung LM. Ischemic preconditioning attenuates postischemic leukocyte – endothelial cell interactions role of nitric oxide and protein kinase C. *Circ J* 2006; 70: 1070–1075.
10. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br. J. Surg.* 1994; 81: 637-647.
11. Göksel Ş, Berrak ÇY. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim* 5-13 Best B. Ischemia and reperfusion injury in cryonics.
12. Heurteaux C, Lauritzen I, Widmann C, Lazdunski M. Essential role of adenosine, adenosine A₁ receptors, and ATP-sensitive K⁺ channels in cerebral ischemic preconditioning (forebrain ischemia/gene expression). *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4666–4670.
13. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Prevention of Ischemia-Reperfusion Injury. *Anesthesiology* 2001; 94: 1133-1138.
14. Uz E, Yılmaz HR, Iraz M, ve ark. Effects Of Vitamin E And Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) On Metabolic Enzymes Of Rats With Experimental Liver Ischemia-Reperfusion Injury. *Ege Tıp Dergisi* 2002; 41: 77–82.
15. Yoshikawa T, Murakami M, Yoshida N, et al. Effect of superoxid dismutase and catalase on disseminated intravascular coagulation in rats. *Thrombosis and Haemostasis* 1993; 50: 869–872.
16. Teoh NC, Farrell GC. Hepatic ischemia reperfusion injury: Pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2003; 18: 891–902.
17. Junqueira, LC, Carneiro, J. 2003, *Basic Histology Text & Atlas*, Tenth Edition, USA: McGraw-Hill Companies, 332.
18. Kaplowitz N. Mechanisms of liver injury. *Journal of Hepatology*, 2000; 32: 39–47.
19. Atila K, Çöker A, Sagol O, et al. Protective effects of carnitine in an experimental ischemia-reperfusion injury. *Clinical Nutrition* 2002; 4: 309-313.
20. Ferdinand S, Nagy A, Robert T, et al. Hepatic ischemiareperfusion injury. *The American Journal of Surgery* 2001; 181: 160-166.
21. Jaeschke H. Molecular mechanisms of hepatic ischemiareperfusion injury and preconditioning. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 284: G15-G26.

22. Currin RT, Gores GJ, Thurman RG. Protection by acidotic pH against anoxic cell killing in perfused rat liver: evidence for a pH paradox. *FASEB Journal* 1991; 5: 207–210.
23. Bond JM, Chacon E, Herman B. Intracellular pH and calcium homeostasis during the paradox of reperfusion injury to cultured neonatal rat cardiac myocytes. *American Journal of Physiology* 1993; 265: 129–137.
24. Kim JS, Ohshima S, Pediaditakis P et al. Nitric oxide: a signaling molecule against mitochondrial permeability transition- and pH- dependent cell death after reperfusion. *Free Radical Biology & Medicine* 2004; 37: 1943–1950.
25. Martindale, J.L, Holbrook, N.J, , Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival, *Journal of Cellular Physiology* 2002; 192: 1–15.
26. Toyokuni, S. Reactive oxygen species- induced molecular damage and its application in pathology. *Pathology International* 1999: 49- 91.
27. Zhang B, Borderie D, Sogni P, Soubrane O, Houssin D, Calmus Y. NO-mediated vasodilation in the rat liver. Role of hepatocytes and liver endothelial cells. *J Hepatol* 1997; 26: 1348-1355.
28. Wiest R, Groszmann RJ. The paradox of nitric oxide in cirrhosis and portal hypertension: too much, not enough. *Hepatology* 2002; 35: 478-491.
29. Ming Z, Han C, Lautt WW. Nitric oxide mediates hepatic arterial vascular escape from norepinephrine-induced constriction. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1999; 277: G1200-G1206.
30. McCuskey RS. Morphological mechanisms for regulating blood flow through hepatic sinusoids. *Liver* 2000; 20: 3-7.
31. Colletti LM, Kunkel SL, Walz A et al. The role of cytokine networks in the local liver injury following hepatic ischemia/reperfusion in the rat. *Hepatology* 1996; 23: 506–514.
32. Takamatsu Y, Shimada K, Chijiwa K, et al. Role of leukotrienes on hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *J Surg Res* 2004; 119: 14–20.
33. Hafez T, Moussa M, Nesim I, et al. The effect of intraportal prostaglandin E1 on adhesion molecule expression, inflammatory modulator function, and histology in canine hepatic ischemia/ reperfusion injury. *J Surg Res* 2007; 138: 88–99.

34. Natori S, Fujii Y, Kurosawa H, et al. Prostaglandin E1 protects against ischemia-reperfusion injury of the liver by inhibition of neutrophil adherence to endothelial cells. *Transplantation* 1997; 64: 1514–1520.
35. Kim YI, Kai T, Kitano S et al. Hepatoprotection by a PGI₂ analogue in complete warm ischemia of the pig liver. Prostanoid release from the reperfused liver. *Transplantation* 1994; 58: 875–879.
36. Yoshidome H, Kato A, Edwards MJ, et al. Interleukin-10 suppresses hepatic ischemia/reperfusion injury in mice: implications of a central role for nuclear factor kappaB. *Hepatology* 1999; 30: 203–208.
37. Motoki A, Adachi N, Liu K et al. Suppression of ischaemia-induced cytokine release by dimaprit and amelioration of liver injury in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008; 102: 394–398
38. Jaeschke H, Farhood A, Smith CW. Neutrophils contribute to ischemia-reperfusion injury in rat liver in vivo. *FASEB J* 1990;4: 3355-3359.
39. Del Zoppo GJ, Schmid-Schonbein GW, Mori E, et al. Polymorphonuclear leukocytes occlude capillaries following middle cerebral artery occlusion and reperfusion in baboons. *Stroke* 1991; 22: 1276-1283.
40. Murota S, Fujita H, Wakabayashi Y, Morita I. Cell adhesion molecule mediates endothelial cell injury caused by activated neutrophils. *Keio Journal of Medicine* 1996; 45: 207-212.
41. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *New Engl J Med* 1989;320:365-376.
42. Granger DN, Kubes P. The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. *J Leukoc Biol* 1994; 55: 662-675.
43. Chosay JG, Essani NA, Dunn CJ, Jaeschke H. Neutrophil margination andn extravasation in sinusoids and venules of the liver during endotoxin-induced injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1997; 272: G1195-G1200
44. Essani NA, Fisher MA, Farhood A, et al. Cytokine-induced hepatic intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) mRNA expression and its role in the pathophysiology of murine endotoxin shock and acute liver failure. *Hepatology* 1995; 21: 1632-1639.
45. Tsuchihashi S, Fondevila C, Kupiec-Weglinski JW. Heme oxygenase system in ischemia and reperfusion injury. *Ann Transplant* 2004; 9: 84–87.

46. Farombi EO, Surh YJ. Heme oxygenase-1 as a potential therapeutic target for hepatoprotection. *J Biochem Mol Biol* 2006; 39: 479–491.
47. Kaizu T, Nakao A, Tsung A, et al. Carbon monoxide inhalation ameliorates cold ischemia/reperfusion injury after rat liver transplantation. *Surgery* 2005; 138:229-35.
48. Amersi F, Shen XD, Anselmo D, et al. Ex vivo exposure to carbon monoxide prevents hepatic ischemia/reperfusion injury through p38 MAP kinase pathway. *Hepatology (Baltimore)* 2002; 35:815-23.
49. Kalender S, Kalender Y, Öğütçü A, ve ark. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: The protective effect of vitamin E. *Toxicology*, 2002; 202: 227-235.
50. Shiratori Y, Kiriyaama H, Fukushi Y, et al. Modulation of ischemiareperfusion-induced hepatic injury by Kupffer cells. *Dig Dis Sci*1994; 39: 1265–72.
51. Fisher, M.A, Eversole, R.R, Beuving, L.J, et al. Sinusoidal endothelial cell and parenchymal cell injury endotoxemia and hepatic ischemia-reperfusion: protection by the 21-aminosteroid tirilazad mesylate, *International Hepatology Communications*1997; 6: 121-129.
52. Öztürk F, Apopitoz, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 9: 143-148,s.
53. Krishnaswamy, K, Sushil K, 2000, Oxidative stres and apoptosis, *Pathophysiology* 2002; 27: 153-163.
54. Rudiger H, Clavien P.A. Tumor necrosis factor-alpha, but not Fas, mediates hepatocellular apoptosis in the murine ischemic liver. *Gastroenterology*,2002; 122:202– 210.
55. Tsuchiya T, Abe T, Saito T, et al. Induction of immediate early genes and apoptosis after ischemia/reperfusion in fatty liver rats. *Transplantation Proceedings*, 1998; 30: 2919–2922.
56. Gao W, Bentley R.C, Madden J.F, et al. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells is a critical mechanism of prevention of injury in rat liver transplantation, *Hepatology*, 1998; 27: 1652–1660.
57. Altan N, Sepici Dinçel A, Koca C. 2006, Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres, *Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem]* , 31; 51–56.

58. Akkuş Ş, 1995, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
59. Mc Cord JM. The evolution of free radicals and oxidative stres. Am J Med. 2000; 108: 652-659.
60. Stahl W and Sies H. Introduction: Reactive oxygen species. Research Monographs, 2002; 1-2.
61. Henry LEA, Halliwell B and Hall DO. The superoxide dismutase activity of various photosynthetic organisms measured by a new and rapid assay technique. Febs Letters. 1976; 66: 2.
62. Özdemir G. Reaktif Oksijen Partikülleri (ROP) (Oksidan Moleküller, Serbest Radikaller). Roche Bilimsel Eserler Serisiİstanbul 1993; 20-26.
63. Fridovich I. Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? Ann NY Acad Sci. 1999; 893: 13-18.
64. Dünder Y, Aslan R. Hücre Moleküler Statüsünün Anşılmasında ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller Antioksidanlar, Cerrahi Tıp Bilimleri Derg. İnsizyon, 1999; 2: 134-142.
65. Suh J, Zhu BZ and Frei B. Ascorbate does not act as apro-oxidant toward lipids and proteins in human plasma exposed to redox-active transition metal ions and hydrogen peroxide. Free Radic Biol Med. 2003; 34: 1306-1314.
66. Cursio R, Gugenheim J, Ricci JE, et al. A caspase inhibitor fully protects rats against lethal normothermic liver ischemia by inhibition of liver apoptosis, FASEB J 1999; 13: 253- 261.
67. Kawashima S. The two faces of endothelial nitric oxide sythase in the pathophysiology of atherosclerosis. Endothelium. 2004; 11: 99-107.
68. Shah, PC, Brolin, RE, Amenta, PS, et al. Effect Of Aging On İntestinal İschemia And Reperfusion İnjury. Mechanisms Of Ageing And Development 1999; 107: 37–50.
69. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif Oksijen Partikülleri Ve Antioksidan Savunmatürk Nefroloji Diyaliz Ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal Of The Turkish Nephrology, Association 1997; 3-4: 92-95.
70. Pryor WA. Oxidant in cigarette smoke: Radicals,hydrogen peroxide peroxyhydrate and peroxyhydrate. Ann ny acad sci 1993; 686:12-27.

71. Esterbauer H, Wag G and Puhl H. Lipid peroxidation and its role in atherogenesis. *Br Med Bull* 1993; 49: 566-576.
72. Gutteridge J. Lipid peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. *Clin Chem*. 1995; 41:18–19.
73. Halliwell B. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo? *Free Radic Res*. 1996; 25: 439-54.
74. Ateş B. İntestinal İskemi-Reperfüzyon Uygulamalarında Değişik Antioksidanların Koruyucu Etkilerinin Araştırılması (tez). Malatya: İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2001.
75. Steenvoorden DP, Van Henegouwen GM. The use of endogenous antioxidants to improve photoprotection. *J Photochem Photobiol B* 1997; 41:1-10.
76. Altınışık M. Serbest radikaller 2000-2001 Yılı anabilimdalı seminerleri. Available from: URL: www.mustafaaltinisik.org.uk/sunumlarim.htm
77. Fang Y-Z, Yang S and Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*. 2002;18: 872-879.
78. Sies H. Physiological society symposium: Impaired endothelial and smooth muscle Cell function in oxidative stress. *Oxidative stress: oxidants and antioxidants*. *Exp Physiol* 1997; 82:291-295.
79. Vertuani S, Angusti A, Manfredini S. The antioxidants and proantioxidants network: an overview. *Curr Pharm Des* 2004; 10:1677-94.
80. Chaudiere J, Ferrari-Iliou R. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol* 1999; 37:949 - 62.
81. Dikmen N, Özgünen T. Asım, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2004.
82. Burtis CA, Ashwood ER, Burns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. W.B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania; 2006.
83. Altan N, Sepici Dinçel A, Koca C. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres, *Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem]* 2006; 31: 51–56.
84. Zelko I, Mariani T, Folz R. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and ECSOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med* 2002; 33:337-349.

85. Nozik-Grayck E, Suliman H, Piantadosi C. Extracellular superoxide dismutase. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37:2466-2471.
86. Bannister J, Bannister W, Rotilio G. Aspects of the structure, function, and applications of superoxide dismutase. *CRC Crit Rev Biochem* 1987; 22:111-180.
87. Chelikani P, Fita I, Loewen P. Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol Life Sci* 2004; 61:192-208.
88. Zamockı M, Koller F. Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. *Prog Biophys Mol Biol* 1999; 72:19-66.
89. del Rio L, Sandalio L, Palma J, et al. Metabolism of oxygen radicals in peroxisomes and cellular implications. *Free Radic Biol Med* 1992; 13:557-80.
90. Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic Biol Med* 1999; 27:951-965.
91. Ho Y, Magnenat J, Bronson R, Cao J, et al. Mice deficient in cellular glutathione peroxidase develop normally and show no increased sensitivity to hyperoxia. *J Biol Chem* 1997; 272:16644-16651.
92. Hayes J, Flanagan J, Jowsey I. Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005; 45: 51-88.
93. Sharma R, Yang Y, Sharma A, Awasthi S, Awasthi Y. Antioxidant role of glutathione S-transferases: protection against oxidant toxicity and regulation of stress-mediated apoptosis. *Antioxid Redox Signal* 2004; 6:289-300.
94. Aslan R. Homeostatik Mekanizmanın Korunması ve Sağaltımında Antioksidanlar. *Ğlaç ve Tedavi Dergisi* 1999; 8: 475-480.
95. Bhana N, Goa KL, McClellan KJ. Dexmedetomidine *Drugs* 2000;59:263–268.
96. Young CC, Prielipp RC. Sedative, analgesic, and neuromuscular blocking drugs. In: Murray MJ, Coursin DB, Pearl RG, et al. (eds). *Critical Care Medicine: Perioperative Management*, 2nd ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2002: 147–167.
97. Aantaa R. Assessment of the sedative effects of dexmedetomidine, an alpha2-adrenaceptor agonist with analysis of saccadic eye movements. *Pharmacol Toxicol*. 1991; 68: 394-398.

98. Aantaa R, Kallio A, Virtanen R. Dexmedetomidine novel alpha₂-adrenergic agonist. A review of its pharmacodynamic characteristics. *Drugs of the Future* 1993; 18: 49-56.
99. Günes Yasemin, Gündüz Murat. Deksmedetomidin Farmakolojik Özellikleri ve Anestezi Pratigindeki Yeri. *Arsiv* 2006; 15: 176.
100. Anttila M, Penttilä J, Helminen A, et al. Bioavailability of dexmedetomidine after extravascular doses in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol.* 2003; 56:691-693.
101. Vertanen R, Savola JM, Sano V, Nyman L. Characterization of selectivity, specificity and potency of medetomidine as alpha-2 adrenoreceptor agonists. *Eur J Pharmacol* 1988; 150: 9-14
102. Reid K, Hayashi Y, Guo TZ, et al. Chronic administration of an alpha 2 adrenergic agonist desensitizes rats to the anesthetic effects of dexmedetomidine. *Pharmacol Biochem Behav* 1994; 47: 171-177.
103. Maccioli GA. Dexmedetomidine to facilitate drug withdrawal. *Anesthesiology* 2003; 98: 575-577.
104. Davies MF, Haimor F, Lighthall G, Clark JD. Dexmedetomidine fails to cause hyperalgesia after cessation of chronic administration. *Anesth Analg.* 2003;96: 195-200.
105. Maier C, Steinberg GK, Sun GH, Zhi GT, Maze M. Neuroprotection by the alpha 2-adrenoreceptor agonist dexmedetomidine in a focal model of cerebral ischemia. *Anesthesiology* 1993; 79: 306- 312.
106. Prielipp RC, Wall MH, Tobin JR, et al. Dexmedetomidine-induced sedation in volunteers decreases regional and global cerebral blood flow *Anesth Analg* 2002; 95: 1052-1059
107. Ishiyama T, Dohi S, Iida H, Watanabe Y, Shimonaka H. Mechanisms of dexmedetomidine-induced cerebrovascular effects in canine in vivo experiments *Anesth Analg.* 1995; 81: 1208-1215.
108. Ohata H, Iida H, Dohi S, Watanabe Y. Intravenous Dexmedetomidine inhibits cerebrovascular dilation induced by isoflurane and sevoflurane in dogs. *Anesth Analg* 1999; 89: 370-377.
109. Miyazaki Y, Adachi T, Kurata J, et al. Dexmedetomidine reduces seizure threshold during enflurane anaesthesia in cats. *Br J Anaesth.*1999;82: 935-937.

110. Jalonen J, Hynynen M, Kuitunen A, et al. Dexmedetomidine as an anesthetic adjunct in coronary artery bypass grafting. *Anesthesiology*. 1997; 86: 331-345.
111. Ronald D. Miller. *Miller's Anesthesia Sixth Edition*. 2005.
112. Ruesch S, Levy JH, et al. Treatment of persistent tachycardia with dexmedetomidine during off-pump cardiac surgery. *Anesth Analg*. 2002; 95: 316-318.
113. Wijeyesundera DN, Naik JS, Beattie WS. Alpha-2 adrenergic agonists to prevent perioperative cardiovascular complications: a meta-analysis. *Am J Med*. 2003; 114: 742-52.
114. Roekaerts P, Prinzen F, Willigers H. The effect of dexmedetomidine on systemic haemodynamics, regional myocardial function and blood flow during coronary artery stenosis in acute anaesthetized dogs. *J Cardiothorac Anesth*. 1994; 8:58.
115. Willigers HM, Prinzen FW, Roekaerts PM, et al. Dexmedetomidine decreases perioperative myocardial lactat release in dogs. *Anesth Analg* 2003; 96: 657–764.
116. Belleville JP, Ward DS, Bloor BC, Maze M. Effects of intravenous dexmedetomidine in humans. I. Sedation, ventilation, and metabolic rate. *Anesthesiology* 1992; 77: 1125–33.
117. Ebert TJ, Hall JE, Barney JA, Uhrich TD, Colino MD. The effects of increasing plasma concentrations of dexmedetomidine in humans. *Anesthesiology* 2000; 93: 382-394.
118. Ronald D. Miller. *Miller's Anesthesia Sixth Edition*. 2005.
119. Maze M, Virtanen R, Daunt D, Banks SJ, Stover EP, Feldman D. Effects of dexmedetomidine, anovel imidazole sedative anesthetic agent, on adrenal steroidogenesis: in vivo and in vitro studies. *Anesth Analg* 1991; 73: 204-208.
120. P.V.N. Nascimento, L.R. Carvahlo and A.B. Teixeira. Renal effects of dexmedetomidine, experimental study in dogs. *Anesthesiology* 2003; A502.
121. D.L. Herr, S.T. Sum-Ping and M. ICU sedation after coronary artery bypass graft surgery: dexmedetomidine-based versus propofol-based sedation regimens. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2003; 17: 576-584.

122. Khan ZP, Ferguson CN, Jones RM. alpha-2 and imidazoline receptor agonists. Their pharmacology and therapeutic role. *Anaesthesia* 1999; 54:146–165.
123. Gertler R, Brown HC, Mitchell DH, Silvius EN. Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *Proc (Baylor University Medical Center)* 2001; 14:13–21.
124. Ma D, Hossain M, Rajakumaraswamy N, et al. Dexmedetomidine produces its neuroprotective effect via the alpha2A-adrenoceptor subtype. *Eur J Pharmacol* 2004; 502: 87–97.
125. Hoffman WE, Kochs E, Werner C, et al. Dexmedetomidine improves neurologic outcome from incomplete ischemia in the rat. Reversal by the alpha 2-adrenergic antagonist atipamezole. *Anesthesiology* 1991; 75: 328–332.
126. Hoffman WE, Cheng MA, Thomas C, et al. Clonidine decreases plasma catecholamines and improves outcome from incomplete ischemia in the rat. *Anesth Analg.* 1991 73: 460–464.
127. Altman JD, Trendelenburg AU, MacMillan L, et al. Abnormal regulation of the sympathetic nervous system in alpha2A-adrenergic receptor knockout mice. *Mol Pharmacol* 1999; 56: 154–161.
128. Ruffolo RR, Nichols AJ, Stadel JM, Hieble JP. Structure and function of alpha2- adrenoceptors. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 475–501
129. Jolkkonen J, Puurunen K, Koistinaho J, Kauppinen R et al. Neuroprotection by the alpha 2-adrenoceptor agonist, dexmedetomidine, in rat focal cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol* 1999;3 72: 31-36.
130. Engelhard K, Werner C, Mollenberg O. Effect of dexmedetomidine on brain neurotransmitter concentration during cerebral ischemia in the rat *Anesthesiology* 2002; 96: 450- 457.
131. Paris A, Tonner PH. Dexmedetomidine in anaesthesia. *Curr Opin Anaesthesiol* 2005; 18: 412-8.
132. Ganjoo P, Farber NE, Hudetz A, Smith JJ, Samso E, Kampine JP, Schmeling WT. In vivo effects of dexmedetomidine on laser-Doppler flow and pial arteriolar diameter. *Anesthesiology* 1998; 88: 429–439.
133. Ogawa Y, Iwasaki K, Aoki K, Kojima W, Kato J, Ogawa S. Dexmedetomidine weakens dynamic cerebral autoregulation as assessed by

transfer function analysis and the thigh cuff method. *Anesthesiology* 2008; 109: 642-50.

134. Venn RM, Bryant A, Hall GM, Grounds RM. Effects of dexmedetomidine on adrenocortical function, and the cardiovascular, endocrine and inflammatory responses in post-operative patients needing sedation in the intensive care unit. *Br J Anaesth* 2004; 86: 650 -656.

135. Tasdogan M, Memis D, Sut N, Yuksel M. Results of a pilot study on the effects of propofol and dexmedetomidine on inflammatory responses and intraabdominal pressure in severe sepsis. *J Clin Anesth.* 2009 Sep; 21: 394-400.

136. Taniguchi T, Kidani Y, Kanakura H, Takemoto Y et al. Effects of dexmedetomidine on mortality rate and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats. *Crit Care Med* 2004; 32: 1322-1326

137. Karaman A, Fadillioglu E, Turkmen E, Tas E et al. Protective effects of leflunomide against ischemia-reperfusion injury of the rat liver. *Pediatr Surg Int.* 2006; 22: 428-34.

138. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem.* 1988; 34: 497-500.

139. Aebi, H. Catalase. In Bergmeyer HU (ed). *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York and London 1974: 673-677.

140. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158-169.

141. Uchiyama M, Mihara, M. Determination of MDA precursor in tissue by TBA test. *Anal Biochem* 1978; 36: 271-278.

142. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with pholin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 193: 265-275.

143. Peterson GL. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Anal. Biochem.* 1977; 83: 346-356

144. Ellman, G. L.. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959; 82: 70-77.

145. Topaloğlu Ü, Odabaşı HM, Güran M, et.al. Karaciğer rezeksiyonu esnasında sürekli iskemi-reperfüzyon hasarı ve PG E2' nin. *Ulusal Travma ve*

Acil Tıp Dergisi Sayfalar: 67–73

146. Henderson JM. Liver transplantation and rejection: an overview. *Hepato-Gastroenterol* 1999; 46: 1482– 1484.
147. Delva E, Camus Y, Nordlinger B, et al. Vascular occlusion for liver resections. Operative management and tolerance to ischemia: 142 cases. *Ann Surg* 1989; 209: 211– 218.
148. Demir S, Erden- inal, M. Pentoxifylline and N-acetylcysteine in hepatic ischemia / reperfusion injury, *Clinica Chimica Acta* 1998; 275: 127–135.
149. Toros DU. Kronik Hemodiyaliz Hastalarında Raloksifen Kullanımının Serbest Radikal Formasyonu Ve Lipid Profili Üzerine Etkisi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları Ve Doğum Anabilim Dalı, 2005; 95.
150. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, et al: Biomarkers of oxidative damage in human disease *Clin Chem* 200; 652: 601.
151. Bhogal RH, Curbishley SM, Weston CJ, Adams DH .Reactive Oxygen Species Mediate Human Hepatocyte Injury During Hypoxia/Reoxygenation Liver Transplantation 2010; 16: 1303-1313
152. Kocoglu H, Öztürk H, Öztürk H, et al. Effect of dexmedetomidine on ischemia-reperfusion injury in rat kidney: a histopathologic study. *Ren Fail.* 2009; 31: 70-74.
153. Ayoglu H, Gul S, Hanci V, Bahadır B, et al. The effects of dexmedetomidine dosage on cerebral vasospasm in a rat subarachnoid haemorrhage model. *J Clin Neurosci.* 2010; 17: 770-773.
154. Gu J, Sun P, Zhao H, et al. Dexmedetomidine provides renoprotection against ischemia-reperfusion injury in mice. *Crit Care.* 2011; 15: R153.
155. Sezer A, Memiş D, Usta U, Süt N. The effect of dexmedetomidine on liver histopathology in a rat sepsis model: an experimental pilot study. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2010; 16: 108-112
156. Yang S, Zhou M, Chaudry IH et al. Norepinephrine-induced hepatocellular dysfunction in early sepsis is mediated by activation of alpha2-adrenoceptors. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 281: G1014–G1021, 2001.