

**T.C.  
NÖNÜ ÜN VERS TES  
TIP FAKÜLTES**

**RATLARDA KARAC ER SKEM REPERFÜZYON  
HASARINA DEKSMEDETOM D N N ETK S**

**UZMANLIK TEZ**

**Dr. Taylan AH N  
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı**

**TEZ DANI MANI  
Doç. Dr. Zekine BEGEÇ**

**Malatya 2012**

**T.C.  
NÖNÜ ÜN VERS TES  
TIP FAKÜLTES**

**RATLARDA KARAC ER SKEM REPERFÜZYON HASARINA  
DEKSMEDETOM D N N ETK S**

**UZMANLIK TEZ**

**Dr. Taylan AH N  
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı**

**TEZ DANI MANI  
Doç. Dr. Zekine BEGEÇ**

**Bu tez, nönü Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2010/139 proje numarası ile desteklenmi tir.**

## Ç NDEK LER

Ç NDEK LER	I
TABLolar D Z N	IV
EK LLER VE GRAF KLER D Z N	V
KISALTMALAR	VI
1.G R ve AMAÇ	1
2. GENEL B LG LER	3
2.1. skemi	3
2.2. Reperfüzyon	4
2.3. Karaci er skemi-Reperfüzyon Hasarı	5
2.3.1. Karaci er skemi-Reperfüzyon Hasarı Olu um 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 Olu ması	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. Glutatyon Peroksidaz	20
2.5.4.4. Glutatyon 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
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>30</b>
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 istatistiksel Analizi	34
<b>4. BULGULAR</b>	<b>36</b>
<b>5. TARTI MA</b>	<b>40</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNER LER</b>	<b>44</b>
<b>7. ÖZET</b>	<b>45</b>
<b>8. SUMMARY</b>	<b>47</b>
<b>9. KAYNAKLAR</b>	<b>49</b>

## TABLULAR D Z N

<b>Tablo 1.</b> Reaktif oksijen türleri	13
<b>Tablo 2.</b> Serbest radikallerin in vivo ortamda kaynakları	15
<b>Tablo 3.</b> Bilinen do al (endojen) antioksidanlar	21
<b>Tablo 4.</b> Bilinen farmakolojik (eksojen) antioksidanlar	22
<b>Tablo 5.</b> Karaci er dokusunda MDA, SOD, KAT, GSH-Px ve GSH düzeyleri [ortanca (min-maks), ortalama $\pm$ SD]	35
<b>Tablo 6.</b> Karaci er dokusunda MDA, SOD, KAT, GSH-P <sub>x</sub> ve GSH düzeyleri (gruplar arası kar ıla tırmalardaki p de erleri)	35

## **EK LLER D Z N**

<b>ekil 1.</b> Karaci er iskemi reperfüzyon hasarının patofizyolojisi	6
<b>ekil 2.</b> Deksmetomidin hidroklorürün kimyasal yapısı	23

## **GRAF KLER D Z N**

<b>Grafik 1.</b> Gruplardaki MDA düzeyleri	36
<b>Grafik 2.</b> Gruplardaki SOD düzeyleri	37
<b>Grafik 3.</b> Gruplardaki KAT düzeyleri	38
<b>Grafik 4.</b> Gruplardaki GSH-P <sub>x</sub> düzeyleri	39
<b>Grafik 5.</b> Gruplardaki GSH düzeyleri	39

## KISALTMALAR

ATP	Adenozin trifosfat
CINC	Nötrofil kemoçekicisi
ÇDYA	Çoklu doymamı ya 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	ntersellüler adezyon molekülü
L	nterlökin
R	skemi ve reperfüzyon
KAT	Katalaz
KC	Karaci er
L <sup>-</sup>	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	Prostoglandin
SEH	Sinüzoidal endotel hücreleri
SOR	Serbest oksijen radikalleri



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

## 1. G R ve AMAÇ

iskemi, dokunun oksijen ve di er metabolitlere olan gereksiniminin dola ım tarafından sa lanamaması ve olu an artık ürünlerin uzakla tırlanamaması olarak tanımlanır (1). Reperfüzyon ise bu iskemik dokudaki kan dola ımının tekrar sa lanmasıdır. skemik bir dokuda kan akımının yeniden ba laması dokunun oksijen ve di er metabolik gereksinimlerini kar ımlarken dokulara iskemik hasardan daha fazla zarar verebilmektedir (2). Bu olay iskemi ve reperfüzyon ( R) hasarı olarak adlandırılmaktadır.

Karaci er ile ilgili cerrahi girişimler (Pringle manevrası veya total vasküler klempaj) ve karaci er transplantasyonu (rezeksiyon sonrası reanastomoz yapıncaya kadar geçen so uk iskemi süresi) gibi durumlarda geçici olarak kan akımının durması ile iskemi, kan dola ımının tekrar sa lanması ile de reperfüzyon olmaktadır. Karaci er R hasarı Kupffer hücre aktivasyonu, serbest oksijen radikalleri (SOR) üretimi, nötrofil infiltrasyonu, adezyon molekülleri artı ı, sitokin salınımı, hepatosit hasarı ve sinuzoidal endotelial hücrelerin ayrılması gibi süreçlere ba lıdır. Bu çok basamaklı hasarın mekanizması tam olarak açıklanamamı tır ancak kanıtlar hasarda anahtar rolün SOR tarafından oynandı ına i aret etmektedir (2).

Serbest radikallerin zararlı etkileri, bazı maddeler tarafından azaltılabilir. Hücre içinde oksijenin metabolize edildi i her yerde, antioksidanlar, oksijen ara metabolitlerini azaltmak için hızlı ve özellikli olarak çalı ırlar. 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 çalışmada, kalp, karaciğer, beyin, barsak ve böbreklerde R hasarının bazı antioksidanlar ile belli ölçülerde önlenebildiğini göstermektedir.

Deksmedetomidin çok güçlü ve ileri derecede selektif bir  $\alpha_2$  reseptör agonistidir.  $\alpha_2$ reseptör agonistlerinin sedatif, anksiyolitik ve analjezik özellikleri premedikasyon amaçlı kullanım için ilgi çekmiştir, hatta düşük doz deksmedetomidin infüzyonunun bunlara ek olarak amnezik özellik taşıdığı da gösterilmiştir. Endotrakeal entübasyon sırasında gelişen hemodinamik değişiklikleri azaltması, intraoperatif dönemde hemodinamik stabilite sağlanması, anestezi ve analjezi gereksinimini azaltması önemli avantajlarıdır (4).

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

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

## 2. GENEL B LG LER

Hepatik cerrahi uygulamaları anesteziistlerin kar ı kar ıya oldu u yüksek riskli major abdominal giri imlerin ba ında gelmektedir (5).

Karaci er ile ilgili cerrahi girişimler (*Pringle* manevrası veya total vasküler klempaj) ve karaci er transplantasyonu (rezeksiyon sonrası reanastomoz yapılıncaya kadar geçen so uk iskemi süresi) sonrasıolu an hasar bu bölgede sınırlı kalmayıp, aktive olan birçok mekanizma ile ortaya çıkan toksik ürünler, ba ta akci er olmak üzere kalp, beyin, böbrekler gibi uzak organlarda hasar olu turur ve uzun süreli yo un bakım izlemi gerektirebilecek çoklu organ yetersizli ine neden olabilmektedir (6,7).

### 2.1. skemi

skemi; arteriyel veya venöz kan akımı azalması yada kesilmesine ba lı organ ve dokuların oksijen ve di er metabolitlere olan ihtiyacının sa lanamaması, olu an artık ürünlerin dola ım tarafından uzakla tırılmaması olarak tanımlanır (8,9). Kan akımındaki azalma sonrası geri dönü ümlü veya dönü ümsüz hücre zedelenmesi ortaya çıkar. Hücresel enerji depolarınının bo alması ve toksik metabolitlerin birikimi sonucu hücre ölümü olu abilir (8).

skemi sırasında hücre membranında bulunan  $Na^+/K^+$  pompası için gerekli olan enerji sa lanamaz.  $K^+$  iyonları hücre dı ına çıkarken  $Na^+$  ve  $Cl^-$  iyonları hücre içine girerler. Anaerobik glikolizle adenozin trifosfat (ATP) üretilmeye çalı ılır, bu da laktik asit üretimi ile sonuçlanır. Karbondioksidin birikimi karbonik asit ( $H_2CO_3$ ) üretimi ile sonuçlanır, böylece asidoz artar.

Adenozin trifosfat ba ımlı çalı an di er bir sistem ise ekstrasellüler ve intrasellüler  $Ca^{+2}$  u dengelemektedir. ntrasellüler  $Ca^{+2}$  artı ı ile proteolitik enzimler ve fosfolipazlar aktive olurlar. Fosfolipazların aktivasyonu ara idonik asit olu umu ile sonuçlanır. Ara idonik asit mitokondriyal enzimleri inhibe eder ve serbest radikal olu umunu arttırır (10,11).

Anoksik veya iskemik ko ullarda adenozinin ekstrasellüler düzeyi artmaktadır. Bu artı muhtemelen intrasellüler ATP'nin yıkılmasına ba lıdır. skemi sırasında meydana gelen ATP yıkımı glikolizisi indüklemektedir. Glikolizis ise laktat olu umunu hızlandırmaktadır (10,12).

Uzamı hipoksi; membran potansiyeli, iyon geçi i ve endotelial hücrelerin iskelet yapısını bozmakta ayrıca intrasellüler volümü artırmaktadır. Bu de i iklikler enerji depolarınının, prostasiklin ( $PGI_2$ ) ve nitrik oksit (NO) gibi bazı biyoaktif maddelerin yapımının azalması, endotelin (ET) ve tromboksan A2 (TxA2) gibi maddelerin yapımının artması ilebirlikte dir (6,13).

## 2.2. Reperfüzyon

Reperfüzyon hasarı; belirli bir süre iskemiye maruz kalan dokuların tekrar perfüze olması sonucu mikrosirkülasyonda görülen tıkanmalar ve tekrar perfüze olan dokunun nekrozu ile karakterize bir hasarlanma olarak tanımlanmı tır (14). skemik dokuda kan akımının geri dönü üyle enerji kayna ı yeniden sa lanarak toksik metabolitler uzakla tırılabilir. Ancak toksik metabolitlerin sistemik dola ıma dönmesi, ciddi metabolik olaylara neden oldu undan, iskemi fazında olu an hasar reperfüzyon fazında daha da artar ve ciddi doku hasarı meydana gelebilir (13).

R hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çe itli faktörler ileri sürülmü tür. Bunlar birbiriyle ili kileri karma ık hücresele ve humoral olaylar serisidir.Özellikle; SOR, polimorf nüveli lökositler (PMNL), kompleman sistemi ve endotel hücreleri olmak üzere ba lıca dört faktör hasarın nedenleri arasında sayılmaktadır (10).

### 2.3. Karaci er skemi-Reperfüzyon Hasarı

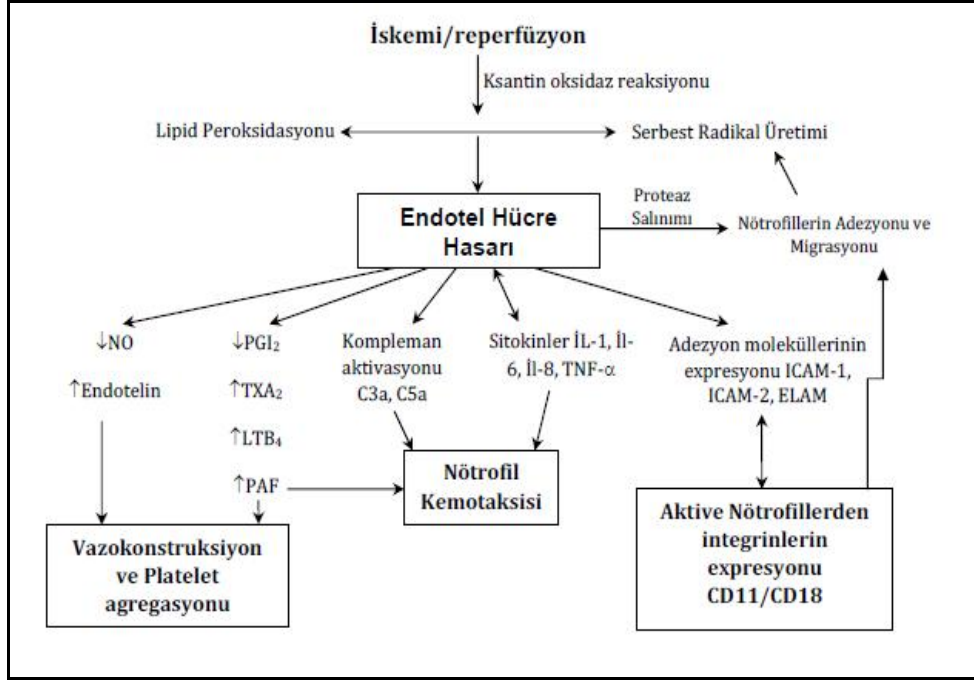
Karaci er R hasarı ilk kez 1975'de deneysel olarak gerçekleştirilen karaci er naklinde gösterilmiştir (8). Transplante edilmiş karaci erde konjesyon, ilerleyici tromboz ve organ yetmezliği ile sonuçlanan greft nekrozu gelişmiştir (15).

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

Karaci er kan akımının %70–80'i portal veneden, geri kalan kısmı ise hepatik arterden sağlanmaktadır (8,17). Kili kan desteği ve glikojen depolarının yüksek anaerobik metabolizma kapasitesine rağmen karaci erde hipoksik hasarlanma meydana gelebilmektedir (18).

Pringle manevrası, karaci erin geni yaralanmalarında yapılan onarımlarda, karaci er nakli ve karaci er rezeksiyonu sırasında kanama kontrolü için yararlı bir girişimdir. Ancak klempleme süresinin uzun olması karaci er R hasarına neden olabilir (8,18).

Karaci er R hasarında ıkk mikroskopik olarak incelendiğinde santral nötrofil lökosit (NL) infiltrasyonu, bölgesel hemoraji ve nekroz, konjesyon, sinuzoidler ve kılcak damarlarda genişleme, bölgesel hepatoselüler vakuolizasyon, hepatosit ödemleri gibi değişiklikler görülür (19,20). Tekil 1'de karaci er R hasarının fizyopatolojisi gösterilmiştir (16).



ekil 1: Karaci er R hasarının patofizyolojisi: NO, nitrik oksid; PGI<sub>2</sub>, prostasiklin; TXA<sub>2</sub>,tromboksan A<sub>2</sub>; LTB<sub>4</sub>,lökotrien B<sub>4</sub>; PAF, Platelet aktive edici faktör; IL, nterlökin; TNF, tümör nekroze edici faktör; ICAM, ntersellüler adezyon molekülü; ELAM, Endotelial lökosit adezyon molekülü

Karaci erde R hasarı iki fazda meydana gelmektedir:

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

Karaci er R hasarının erken fazında endotelial hücre i mesi, vazokonstriksiyon, koagülasyon sisteminin aktivasyonu, platelet agregasyonu ve lökosit infiltrasyonu sonucunda mikrosirkülasyonda bir yetersizlik geli ir (6,8). Vazokonstrüksiyon; NO ve ET dengesindeki bozulma sonucu ortaya çıkar. Sinüzoidal lümen daralır, bunu takiben NL'nin dola m hızı yava lar. NL'nin endotel ile temas süresi artar ve böylece lökostazis gerçekleşir. Bu durumda

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

Hepatik R hasarı modellerinde komplemanın da R hasarında rol oynadı ı gösterilmi tir. Anaflatoksinler ve kompleman aktivasyonu sonucu ortaya çıkan ürünler; karaci erde NL aktivasyonu, vazokonstriksiyon, mikrosirkülasyonda bozulma, vasküler permeabilitede artı ve hücre lizisi ile ili kilidir. Ayrıca sitokinler, intrasellüler proteinlerin serbestle mesi 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 ba lı mekanizmalarda bozukluklar olu turur. Serbest sitozolik  $Ca^{+2}$ 'un artı ı protein kinazları, fosfolipazları ve di er yıkıcı enzimleri aktive eder ve subsellüler hasarın artmasına yol açar. A ırı  $Ca^{+2}$  yüklenmesi, oksijen radikalleri ile ba layan hasarı artırır (10).

### **2.3.1. Karaci er skemi- Reperfüzyon Hasarı Olu um Mekanizmaları**

#### **2.3.1.1. pH Paradoksu**

skemi sırasında, anaerobik glikoliz ve ATP hidrolizi nedeniyle pH dü er. Olu an metabolik asidoz hepatositlerde hücre ölümünün ba lamasına kar ı koruyucu i lev görür. Ancak iskemik hücrelerde reperfüzyonla birlikte pH'nın normale dönmesi pHba ımlı 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 artı yüksek ve/veya uzun süreli oldu unda DNA, lipid ve proteinlerde çok ciddi hasara neden olabilmektedir. SOR birikimine kar ı 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 endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve uyarılabilen nitrik oksit sentaz (iNOS) tarafından sentezlenir. eNOS sadece sinüzoidal endotelial hücrelerde üretilmektedir, iNOS ise endotelial hücreler, hepatositler ve diğer KC hücreleri tarafından düzenlenmektedir. NO hücre membranından serbestçe 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. R 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- $\alpha$ , IL-1, IL-6, platelet aktive edici faktör (PAF) ve lökotrienler (LT) salgınır. Yine aynı hücrelerden antiinflamatuvar mediatör olan prostoglandin (PG), IL-10 ve IL-13 salgınır. Bu maddelerden en çok çalışılan ve bilinenler TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6'dır. Bu sitokinler belirgin proinflamatuvar aktiviteye sahip olup IL-8 sentezini artırır ve antiinflamatuvar özellikleri olan IL-10 salgınımını da azaltırlar. TNF- $\alpha$ , 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 arttı ı bildirilmi tir (32). PGE<sub>1</sub>, PGI<sub>2</sub>, IL-10 ve IL-13'ün ise hayvan modellerinde KC R hasarını azalttı ı gösterilmi tir (33-37).

### **2.3.1.5. Kemokinler**

Kemokinler, güçlü NL kemotaktan özellikleri olan dü ük moleküler a ırlıklı proteinlerdir. Sitokinler kemokin olu umunu indüklerler. TNF- , AC'den ENA-78 kemokininin salınmasını uyarır, bu da AC hasarının ortaya çıkmasına neden olur. Di er 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**

R hasarının erken reperfüzyon fazında NL'ler KC damar yata ında toplanır, aktive olurlar ve reperfüzyon hasarını iddetlendirirler. R hasarında lökosit aracılı hasarın olu umu; mikrovasküler tıkanıklık, SOR salınımı, sitotoksik enzim salınımı, vasküler permeabilite artı ı ve artımı sitokin salınımı gibi bir çok mekanizmaya dayanmaktadır. Nötrofillerin vaskuler kompartmanda toplanmasında ve dokuya geçişinde bir çok lökosit adezyon molekülü görev yapmaktadır (38-42).

Hücresele adezyon kuvvet molekülleri, selektin, integrin ve immunglobulin süper ailesi olmak üzere ayrılırlar (8). Selektin, molekülün hücre dı ı kısmında çe itli kompleman ba lama tekrarları olan lektin-ba lı glikoproteindir. Endotelial hücrelerde (E-selektin), plateletlerde (P-selektin) ve NL'lerde (L-selektin) bulunur. Bu moleküller doku hasarında, lökositlerin aktive endotele tutunmasında önemli olan partiküllerdir.

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

ba lanır (8). Nötrofil aracılı hasarın olu abilmesi için önce nötrofiller damar dı na çıkmalıdır. Bu i lem için 2-integrinler-ICAM-1 ve 1-integrinler-VCAM-1 etkile imleri gereklidir. Bu süreç sonunda, lökositlerde degranülasyon ve adezyona ba lı oksidan stres ortaya çıkar (43,44).

### **2.3.1.7. Hem Oksijenaz (HO) Sistemi**

HO, hem molekülünü serbest demir, karbon monoksit (CO) ve biliverdin olu turmak üzere parçalayan reaksiyonu katalizler ve hız kısıtlayıcı enzimdir. HO'nun HO-1, HO-2 ve HO-3 olmak üzere üç izo-enzimi vardır. Fizyolojik ko ullarda ba ta beyin ve testisler olmak üzere dokularda bulunan temel izoform HO-2'dir. HO-1 ise ısı- ok proteini olarak bilinir. HO-1 karaci er R hasarı durumunda aktive olur ve sitoprotektif etkisi vardır (45,46).

HO reaksiyonunun ürünleri R sürecinde koruyucudur. Biliverdin; endotel hücrelerinden adezyon moleküllerinin, proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltarak ve antiapoptotik yolun regülasyonunu yaparak, R sürecinde koruyucu etkiler göstermektedir. Di er hem yıkım ürünü olan CO mikrosirkülasyonun düzenlenmesinde önemlidir. nhale CO tedavisinin erken proinflamatuvar gen ekspresyonunu ve nötrofil infiltrasyonunu azaltarak, karaci er R ve transplantasyon modellerinde hasarı azalttı ı gösterilmi tir (47,48). CO,antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkilerini p38 MAPK-sinyal yolunu modüle ederek göstermektedir (45).Ayrıca eksojen CO, TNF , 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 R hasarının patogenezinde önemli rol oynayan partiküllerdir (50).

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

### **2.3.1.9. Hücre Ölümü**

Apoptoz, organizmanın ihtiyaç duymadığı, biyolojik görevini tamamlamı 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 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 çalışmaları apoptoz mekanizmalarının erken engellenmesinin reperfüzyon sonrası parankim hasarını azalttığı gösterilmiştir (56).

## **2.4. Serbest Radikaller**

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

### **2.4.1. Serbest Radikallerin Oluşması**

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

1. Kovalent bağta bulunan 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 oluşur (59).

Oksijen atomunun dış yörüngesini oluşturan p orbitalinde iki elektron eksik olmasından dolayı "diradikal" olarak değerlendirilir. Bu özelliğinin 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 metallere otoksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir.

Süperoksit, başka moleküller ile kolayca elektron alarak verilebilen 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 otoksidasyonu 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. ki 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. Geçici 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<sup>•</sup>)**

Hidroksil radikali en aktif radikal olarak bilinir. *in-vivo* oluşan bir OH<sup>•</sup> radikali yarı ömrü çok kısa olmasına rağmen hemen her moleküle saldırır ve oluşturduğu yerde de büyük hasara neden olur (67).

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

Singlet oksijen ortaklaşa bir 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

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

**Tablo 2:** Serbest radikallerin in vivo ortamda kaynakları

<b>NORMAL BİYOLOJİK LEMLER</b>	1-Oksijenli Solunum 2-Katabolik ve anabolik işlemler
<b>OKSİDATİF STRES YAPICI DURUMLAR</b>	1- skemi, hemoraji, travma, radyoaktivite, intoksikasyon 2-Ksenobiotik maddelerin etkisi a) nhale edilenler b) Alı kanlık yapan maddeler c) laçlar 3-Oksidan enzimler a) Ksantin oksidaz b) ndolamin 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 oku, güneş ışını, sigara
<b>YAŞLANMA SÜRECİ</b>	

#### 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 kar ı tıkları yapı genellikle organizmaların lipid komponentleridir. Hücre membranı bol miktarda çoklu doymamı ya asiti (ÇDYA) içerdi inden oksidan ajanlar için hedef olmaktadır.

Biyolojik moleküllerden bir hidrojen atomu çıkarsa geride e le memi elektron bırakır. E er radikaller ÇDYA ile reaksiyona girip hidrojen atomu koparırsa geride kalan kısım lipid radikalini olu turur. Olu an lipid radikali moleküler oksijenle reaksiyona girip lipid peroksil radikalini olu turur. Olu an lipid peroksil radikali bir ba ka ÇDYA ile reaksiyona girerek kendisi lipid hidroperoksite dönü ürken ürün olarak bir ba ka lipid (L<sup>-</sup>) radikali olu ur. Peroksil radikalleri zincir reaksiyonunu devam ettirir.

Olu an lipid hidroperoksit geçi metallerinin katalizi ile yıkılıp ço u zararlı olan aldehitler olu ur. Lipid peroksidasyonu sonucunda ortaya çıkan çe itli aldehitlerden en iyi bilinenleri Malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (HNE)'dir. MDA ölçümü ile lipid peroksidasyonunun de erlendirilmesi yapılabilmektedir (71,72).

#### **2.4.4.2. Proteinlere Etkileri**

Proteinler serbest radikallere kar ı lipidlere göre daha az hassastır. Hassasiyetteki bu azalma aminoasit içeri ine ba lıdır. Doymamı ba ve sülfür içeren aminoasitlerden meydana gelmi proteinler serbest radikallerden nispeten daha kolay etkilenir. Serbest radikallerin meydana getirdi i hasar sonucunda proteinlerin yapısında bozulma meydana gelir. Enzimler protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde de i iklikler meydana gelir ve görevlerini yerine getiremezler (73).

#### **2.4.4.3. Karbonhidratlara Etkileri**

Hidroksil radikali glukoz, mannitol ve deoksi ekerlerle do rudan reaksiyona girer. Monosakkaritlerin oksidasyonu ile peroksitler, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve okzoaldehitler olu ur. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere ba lanabilme ve

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

#### **2.4.4.4. DNA'ya Etkileri**

Serbest radikallerle nükleotidlerin etkilemesi sonucu DNA zincirinde kırılma ve mutasyonlar oluşabilir. DNA hasarının büyüklüğü serbest radikallerin polimeraz enzimi ile reaksiyona girerek DNA'nın onarılmasını engellemesi ile ilgilidir. 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 etkileyip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltır veya inaktif hale 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. Yerle imlerine göre:**

ntraselüler yerle imli olanlar

Plazma ve di er ekstraselüler sıvılarda bulunanlar

**4. Çözünürlüklerine göre:**

Suda çözünenler

Ya da 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 ba lıcaları Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksida (GSH-Px), glutatyon S-Transferaz(GST), katalaz (KAT), mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi ve hidroperoksidaz olarak sayılabilir. Enzim olmayan endojen antioksidanlar ise, melatonin, seruloplazmin, transferrin, miyoglobin, hemoglobin, 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, -karoten, C vitamini ve folik asittir.

laç 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 analo u); 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 elatörleridir (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).



nsanda SOD'un iki izomeri bulunmaktadır. **Cu-Zn SOD**sitozolde 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)

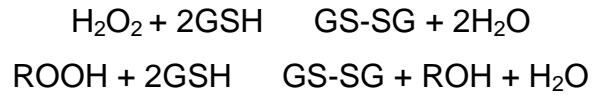
Katalaz ( $H_2O_2 : H_2O_2$  : oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6)yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. KAT esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. KAT,  $H_2O_2$ 'yi suya ve oksijene parçalar. Demir veya manganeezi kofaktör olarak kullanır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



Granülomatöz hücrelerde KAT, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma i levini de görür. Hücrede olu an H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi, OH olu umunu önlemek için ortadan kaldırır.

#### 2.5.4.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

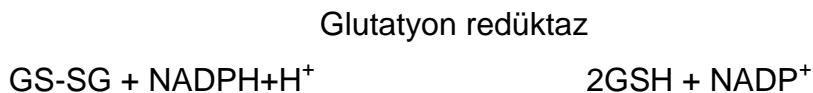
Glutasyon Peroksidaz (glutasyon:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oksidoredüktaz, EC 1.11.1.9) sitoplazmada bulunur, 4 selenyum atomu içerir ve tetramerik yapıdadır. GSH-Px, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve organik hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. İnsanlarda GSH-Px'in 4 farklı izoenzimi bulunmu tur. GPx-1 en sık bulunandır ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'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. Glutasyon Redüktaz

Glutasyon redüktaz (EC 2.5.1.18) okside glutasyonun (GS-SG) tekrar redükte glutasyona (GSH) dönüşümünü katalize eder.Glutasyon S-Transferazlar (GST) ba ta ara idonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı, selenyum-ba ımsız GSH-Px aktivitesi göstererek, bir antioksidan savunma mekanizması olu tururlar. Bunlar detoksifikasyon da yaparlar (58,81,82,92,93).



### 2.5.5. Enzim Olmayan Antioksidanlar

Oksidatif stres faktörlerinin giderilerek fizyolojik i levlerin 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 <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'ye çevirir.
Katalaz	Hemoprotein	Peroksizomlar	Peroksit nötralizanı
GPx	Selonoprotein	Sitosol, mitokondri	Lipit peroksidasyon ürünlerini indirger
GSH-redüktaz	Dimerik protein	Sitosol, mitokondri	Disülfidleri indirger
- tokoferol	Ya da çözünen vitamin.	Membranlar, ekstrasellüler ortam	Peroksidasyonu azaltır
-karoten	Vit-A prekürsörü	Hücre membranları	Peroksil temizleyicisi
Glutasyon	Tripeptit	ntراسellüler ortam, alveoller	GSH redoks substratı
Ürik asit	Okside pürin bazı	Geni bir dağılım gösterir	Hidroksil toplar, Vit C'yi korur
Sistein	Aminoasit	Geni 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 <sub>2</sub> O <sub>2</sub> '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

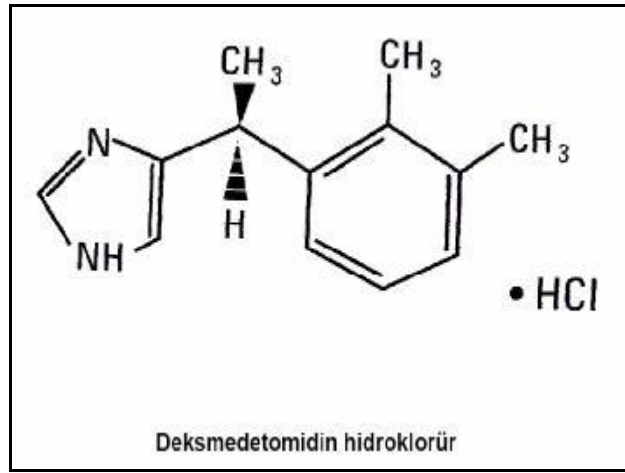
Akut fiziksel aktiviteler ve gebelik gibi fizyolojik durumlar ile pek çok patolojik durumda antioksidan kapasite azalabilmekte ve antioksidan savunma sistemi yetersiz kalmaktadır. Bu gibi durumlara karşı eksojen antioksidan maddelerin alınımı gerekli olur (Tablo 4) (94).

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

Antioksidan sınıfı	Spesifik tipi	Fonksiyonu
<b>Ksantin Oksidaz inhibitörleri</b>	Allopurinol Oksipurinol	Ksantin oksidaz reak. süperoksit üretimini inhibe eder
<b>Proteaz inhibitörleri</b>	Soya tripsin inhibitör Serin proteaz inhibitör	Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder
<b>NADPH Oksidaz inhibitörleri</b>	Adenozin Lokal anestezipler	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit inhibisyonu
<b>Süperoksit Dismutaz</b>	Doğal SOD IgA bağımlı SOD Polietilen glikol SOD	Süperoksitten hidrojen peroksit dismutasyonunu katalizler
	Ginko Biloba (Egb 761)	SOD ile benzer fonksiyon
<b>Katalazlar</b>	Doğal katalaz Polietilen glikol katalaz Lipozom kapsüllü katalaz	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'nin oksijen ve suya indirgenmesi
<b>Nonenzimatik toplayıcılar</b>	Mannitol	Hidroksil radikal giderici
	Albumin	Geni çaplı oksidan toplayıcı
	Dimetil sülfosit	Fe, süperoksit, hidroksil toplayıcı
	17- aminosteroid lazooidler	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ve hidroksil giderici
	Glutasyon	Süperoksit giderici
	Ürik asit	Süperoksit ve hidroksil giderici
	Bilirubin	Peroksidasyon zincirini bozar
<b>Demir Redoks Zinciri inhibitör</b>	Desferoksamin Apotransferrin Seruloplazmin	Serbest Fe+3 atomlarını bağlayarak radikal reaksiyonlarını önler
<b>Endojen savunmayı arttıran ajan</b>	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,  $\alpha_2$  reseptörler için selektivitesi olduğu gösterilen oldukça lipofilik bir ajandır. Deksmetomidin çok güçlü ve ileri derecede selektif bir  $\alpha_2$  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 (ekil 2).



ekil 2: Deksmetomidin hidroklorürün kimyasal yapısı

Deksmetomidin, 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. *in 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.

Deksmetomidin 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. Deksmetomidinin bilinen aktif metaboliti yoktur.



Sa lıklı erkek gönüllülerde deksmedetomidinin biyoyararlanımı de erlendirilmi olup peroral, bukkal ve intramusküler uygulama sonrasında biyoyararlanım sırasıyla %16 (%12-20), %82 (%73-92) ve %104 (%96-112) olarak saptanmı tır. ntramuskuler uygulamada maksimum konsantrasyona 1.6-1.7 saatte ula ılmaktadır. Bu süre transdermal uygulamada 6 saattir ve biyoyararlanım %88'dir ( 99,100).

Adrenerjik reseptörler  $\alpha_1$  ve  $\alpha_2$ reseptörler olarak bütün vücutta yerle mi lerdir.  $\alpha_1$ reseptörler beyin, kalp, düz kas, karaci er ve dalakta bulunurken  $\alpha_2$ reseptörler SSS, damar düz kası gibi efektif organlar ve özellikle sempatik sinir sistemi tarafından innerve edilen dokularda yerle mi lerdir. Yapılan çalı malar  $\alpha_2$ reseptörlerin  $\alpha_2a$ ,  $\alpha_2b$ ,  $\alpha_2c$ ,  $\alpha_2d$  subtipleri oldu unu göstermi tir (99). Norepinefrin salınımını regüle eden otoreseptörlerin büyük ço unlu u  $\alpha_2a$  alt grubuna aittir. Fonksiyonel  $\alpha_2a$  alt grubundan yoksun farelerde deksmedetomidinin sedatif, anestezik ve amnezik etkileri görülmez iken  $\alpha_2b$  ve  $\alpha_2c$  reseptörlerinin inaktive oldu u hayvanlarda bu cevaplar normal olarak bulunmu tur. Nöroeffektör bile kede  $\alpha_1$ reseptör agonistlerin ba lanması vazokonstriksiyon, glikojenoliz ve kalp hızında artı ile sonuçlanır. Sempatik sinir uçlarındaki  $\alpha_2$  reseptörlerin presinaptik aktivasyonu katekolamin salınımını engeller. Santral sinir sistemindeki  $\alpha_2$  reseptörlerin postsinaptik aktivasyonu sempatik aktivitenin inhibisyonuna, kan basıncı ve kalp hızında azalmaya, sedasyon ve anksiyolize yol açar. Ayrıca spinal korddaki  $\alpha_2$ reseptörleri agonistlerin etkilemesiyle de analjezi sa lanır. Deksmetomidin,  $\alpha_1$  reseptörlerine oranla spesifik ve selektif olarak  $\alpha_2$  reseptörlerini 1620 kat daha fazla etkilemektedir. Bu oran klonidinde 220'dir (101). Bu da deksmedetomidinin  $\alpha_2$  reseptörler üzerindeki potent selektif etkisini kanıtlamaktadır.

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

### **2.6.1. Santral Sinir Sistemi Etkileri**

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

coreuleus'daki postsinaptik  $\alpha_2$ reseptörleri aktive ederek gösterir. Analjezik yanıt ise  $\alpha_2$  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 oluşturulduğunu 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 allodiniyeden olmaz (104). Hayvanlarda yapılan inkomplet serebral iskemi ve reperfüzyonçalışmalarında, deksmedetomidinin serebral nekrozu azaltarak nörolojik prognozduzelttiği gösterilmiştir.

Fokal iskemi oluşturulmuş tav an modellerindedeksmedetomidin ve halotan kombinasyonu, tek başına halotan uygulaması ile karşılaştırıldığında kombinasyon grubunda daha az kortikal nöron hasarı olduğu görülmüştür (105).Deksmedetomidinin intrakraniyal basınç ve serebral kan akımı üzerine etkileri hakkındaki bilgiler sınırlıdır.  $\alpha_2$ reseptörler serebral vasküler yatakta oldukça geniş yayılım gösterirler ve bu reseptörlerin aktivasyonu spesifik vazokonstriktif yanıtı neden olur. Kortikal kan damarlarında presinaptik  $\alpha_2$ reseptörlerin aktivasyonu norepinefrin salınımını azaltırken, postsinaptik  $\alpha_2$ reseptörlerin aktivasyonu vasküler düz kas tonusu artırabilir. 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 bağımlı pial arterlerde vazokonstrüksiyon oluşturduğunu gösterilmiştir (107).

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

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

### 2.6.2. Kardiyovasküler Sisteme Etkisi

α<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> agonistlerin gelişmesi ile istenen hipnotik analjezik etkiler belirginleirken 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 artışı ve kalp hızında % 27 azalmaya neden olur. Bu değişiklikler enjeksiyondan 5 dakika sonra olur. Kan basıncı artışı muhtemelen deksmedetomidinin periferik α<sub>2</sub> 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 azalttığını gösterilmiştir. Yüksek dozlarda (1 µg/kg ve üzeri) hipertansiyon ve taşikardiye karşı miyokardın enerji gereksinimini azaltmaktadır (110). Revaskülarizasyon sırasında esmolol

tedavisine yanıt vermeyen intraoperatif ta ikardi durumunda deksmedetomidin ile kalp atım sayısı azaltılabilmir (112).

Kardiyak ve vasküler cerrahide preoperatif, intraoperatif veya postoperatif (ilk 48 saat) klonidin, deksmedetomidin veya mivazerol uygulanarak mortalite, miyokardiyal infarkt oranı, iskemi veya supraventriküler ta ikardi de erlendirilmir tir.  $\alpha_2$  adrenerjik agonistler vasküler cerrahide mortalite ve miyokardiyal infarkt oranını, kardiyak cerrahide de iskemi ve buna ba lı mortaliteyi azaltmaktadırlar (113).

Farklı çalı malarda, deksmedetomidinin hem i.m hem de i.v uygulamalarında nadiren de olsa bradikardi ve sinüs arresti olu turabilece i gösterilmir tir. Hayvan modellerinde deksmedetomidinin iskemik kalpte oksijen tüketimini azalttı ı, akut oklüzyonda kan akımını noniskemik zondan iskemik zonayönlendirdi i gösterilmir tir (114). Koroner iskemi olu turulan köpekler üzerinde yapılan bir çalı mada, deksmedetomidin kullanımı ile serum laktat düzeyi, kalp hızı ve katekolamin düzeyinde azalma, endokardiyal-epikardiyal kan akım oranında % 35 artma oldu u gösterilmir tir(115).

### **2.6.3. Solunum Sistemine Etkileri**

Deksmedetomidinin solunum sistemi üzerine minimal etkileri vardır, bu solunum depresyonu yapan di er sedatiflere göre önemli bir avantajdır. İlimlı hiperkapni ve hipoventilasyon yapabilmektedir, bunun  $\alpha_2$  adrenerjik agonistlerin iyi bilinen merkezi sinir sistemi depresyonu etkisine ba lı oldu u dü ünülmü tür (116). Sedatif ve analjeziklerin uygulanmasında solunum depresyonu, sıkça kar ıla ılan bir problem olmasına ra men, 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 dü ük doz deksmedetomidin kullanıldı ında arteriyel oksijenasyon veya pH'da de i iklik olmadı ını, yüksek doz kullanıldı ında ise PaCO<sub>2</sub> düzeyinin % 20 oranında arttı ını göstermi lerdir.

Bununla beraber deksmedetomidin dozunun artması ile solunum sayısında artma oldu u görülmü tür (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 hipomotiliteye yol açar. Üriner sistemde diürece neden olur. drar osmolaritesini azaltıp, serbest su klirensini artırır. Serum kreatinini azaltır (120,121).

#### **2.6.5. Renal Sisteme Etkileri**

$\alpha_2$ -adrenerjik agonistlerin önemli avantajlarından biri böbrek i levlerini koruyucu etkileridir.  $\alpha_2$  reseptör uyarımı diürez ve natriürece neden olur. Vazopressin sekresyonunu azaltır ve onun renal tübüllere etkisini antagonize eder (122).  $\alpha_2$ reseptör uyarımı ayrıca renin salınımını baskılar, bu da afferent arteriolar dilatasyona yol açarak glomerüler filtrasyon hızını artırır.  $\alpha_2$  reseptör uyarımı bunun yanında atrial natriüretik peptid salınımını artırarak da glomerüler filtrasyon hızını artırır (122,123).

#### **2.6.6. Nöroprotektif Etkileri**

Deneysel serebral iskemide deksmedetomidinin nöroprotektif etkileri oldu u gösterilmi tir. Hipoksik iskemik beyin hasarını azalttı ı, beyin hasarı olanlarda da nörolojik i levsel iyile mede ciddi geli me sa ladı ı bildirilmi tir (124-126). Bu etkinli in hangi mekanizmayla oldu u net de ildir ancak katekolaminlerin salınımı ve serum seviyelerinin bunda önemli rol oynadı ı sanılmaktadır. Bununla beraber merkezi ve periferik sinirlerde nörotransmitter salınımını düzenlemesi açıklayıcı olabilir (127,128).

Ba ka bir çalı mada bu etkiye yol açan  $\alpha_2$ reseptör subtipinin  $\alpha_2a$  oldu u, fokal serebral iskemide, deksmedetomidin uygulamasının (9  $\mu$ g/kg) kortekste infarkt volümünü % 40 azalttı ı, bunun yanı sıra minimal hiperglisemi ve hipotansiyon olu turdu u gözlenmi tir (129).Serebral iskemi sırasında dola ımdaki katekolaminler azalırken, beyindeki noradrenalin ve glutamat konsantrasyonlarının deksmedetomidinden etkilenmedi i de bildirilmi tir (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 arkadaşları (136) sıçanlardaki endotoksine bağlı şok modelinde deksmedetomidinin hemodinamik parametreler, arteriyel kan gazları ve plazma sitokin konsantrasyonları üzerine etkisini inceledikleri çalışmaları deksmedetomidinin IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeyini azaltarak inflamatuvar yanıtları inhibe ettiğini, alveol duvarlarında nötrofil infiltrasyonunu ve mortalite oranlarını azalttığını göstermiştir.

Venn ve arkadaşları (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 incelemiştir. Deksmetomidin uygulanan grupta IL-6 düzeyinin azaldığı ve adrenokortikotropik hormon, prolaktin, kortizol ve glukoz düzeyleri açısından iki grup arasında fark olmadığını saptamıştır.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalı ma nönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Ara tırmaları Etik Kurulunun 2010/51 numara ile izni alındıktan sonra, nönü Üniversitesi Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalı mada toplam 40 adet a ırlıkları 250-350 g arasında de i en Sprague-Dawley genç, erkek rat kullanıldı.

Deney hayvanları deney süresince 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ı ıklandırması olan, ısı ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) ve nemi (%45-50) otomatik olarak ayarlanmı odalarda ya atıldı. Deney sürecinde tüm ratlar polikarbonat effaf kafeslerde standart pellet yem ile beslendi ve her gün taze çe me 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 i lemler; steril ortamda ve steril cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirildi. Diürnal hormonal de i imlerin ratlar üzerine olası etkileri dikkate alınarak tüm cerrahi i lemler 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, sıcaklı ı ılık ve sabit olan diseksiyon tablasına tespit edildi. Cerrahi uygulama bölgesinin %70'lik etil

alkol ile temizli i 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 diller gruplara benzer şekilde manipüle edildi. Grup 2'de laparotomi sonrasında segmental (%70) hepatik ılık iskemik modeli kullanıldı (137). Bu modele göre sol ve median karaciğer loblarının portal tıradındaki tüm yapılar (hepatik arter, portal ven ve safra kanalı) açılarak çıkarılarak antitravmatik mikrovasküler klemplarıyla 60 dakika süre ile kan akışı durduruldu. 60 dakika süren iskemiden hemen ardından antitravmatik mikrovasküler klempler 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 işleminden sonra; 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 homojenizatlarında; SOD, KAT ve GSH-Px enzim aktiviteleri süpernatanda ölçüldü. Protein miktarı ise enzim aktivitelerinin ölçüldü ü 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 içerisine yerleştirilen cam tüpteki doku 16.000 devir/dk hızda 3 dakika homojenize edildi (IKA, Germany). Son hacim Tris-HCl tamponuyla 5 ml'ye tamamlandı. Kararı tırdıktan sonra homojenizatın 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 ekilde 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 metodda SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksidin nitrobluetetrazolium'u (NBT) indirgemesiyle ölçülmektedir. Olu an süperoksit radikalleri NBT'yi indirgeyerek renk de i ikli ine neden olur. Olu an bu renk 560 nm'de maksimum absorbans verir. Ortamda SOD enzimi bulunması halinde NBT indirgenmesi gerçekleşmeyip, enzim miktarı ve aktivitesine ba lı olarak açık renk olu maktadır. Enzimin bulunmadı ı ortamda ise bu indirgeme meydana gelip mavi-mor renk olu maktadır. 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin parçalanma hız sabitinin (K) tayinine dayanmaktadır. Deney ortamına eklenen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, KAT enzimi tarafından su ve oksijene parçalanır. Bu reaksiyon UV spektrofotometrede absorbans azalması eklinde ortaya çıkar. Absorbansdaki bu azalma KAT enzim aktivitesiyle do ru orantılıdır. Aktiviteler K/g protein olarak ifade edildi.

### **3.3.3. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesi Ölçümü**

Glutasyon peroksidaz aktivitesi Paglia ve arkadaşlarının metoduna göre ölçüldü (140). Metod, ortamda bulunan NADPH'in enzim aktivitesiyle ortamdaki uzaklaştırılması sonucu 340 nm'de absorbansın azalmasına 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 oluşmasına bağlıdır. Rengin koyuluğu ile ortamdaki protein konsantrasyonu doğru orantılıdır. Sonuçlar hesaplanıp µg/ml olarak diğer enzim aktivitelerinin belirlenmesinde kullanıldı.

### **3.3.6. Glutasyon Ölçümü**

Glutasyon ölçümü Ellman'ın metoduna göre yapıldı (144). Homojenatlar % 10'luk trikloroasetik asit solüsyonuyla karıştırılıp 4000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. Böylece proteinlerden ayrılaştırılmış ekstrakt elde edilmiş oldu. Proteinsiz ekstrakta 0.3 molarlık disodyum fosfat solüsyonu eklendi. Sonrasında ise sodyum sitrat 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 istatistiksel Analizi

statistiksel de erlendirmeler Windows uyumlu SPSS®15.0 bilgisayar programı ile yapıldı. Grupların da ılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile analiz edildi. Gruplar SOD, CAT, GSH-Px ve GSH parametreleri yönünden normal da ılım gösterdi inden One-Way ANOVA testi; posthoc testlerden CAT için Tamhane 2 testi; SOD,GSH-Px ve GSH için Tukey testi uygulandı. De erler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi.

MDA yönünden normal da ılıma uyulmadı ından dolayı Kruskal-Wallis ve posthoc olarak Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi yapıldı. De erler ortanca (minimum-maksimum) ekinde ifade edildi. istatistiksel olarak  $p<0.05$  de eri anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalı mamızda elde edilen tüm sonuçlar Tablo 5'de, istatistiksel olarak p de erleri ise Tablo 6'da verilmi tir.

Tablo 5: Karaci er 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: Karaci er dokusunda MDA, SOD, KAT, GS-Px ve GSH düzeylerinin gruplar arası kar ıla tırmalardaki p de erleri. AD: anlamlı de il

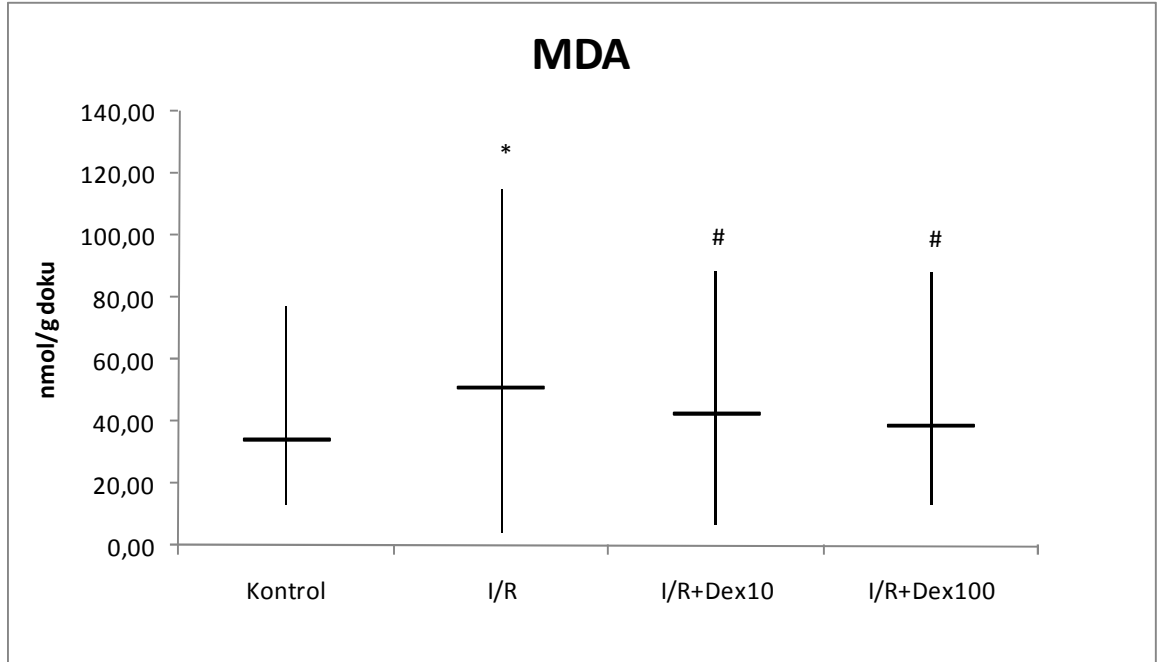
Kar ıla tırılan gruplar	MDA nmol/g doku	SOD U/mg protein	KAT K/g protein	GSH nmol/g	GSH-Px U/mg protein
1-2	0,001	0,001	0,027	0,014	0,001
1-3	AD	AD	AD	AD	0,001
1-4	AD	AD	AD	AD	AD
2-3	0,001	AD	AD	0,050	AD
2-4	0,001	0,001	0,001	0,006	AD
3-4	AD	AD	AD	AD	0,014

#### 4.1. Deksmetomidinin KC dokusunda MDA aktivitesi üzerine etkisi

skemi 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), R grubu (Grup 2) ile kıyaslandığında MDA düzeylerinde dü ü anlamlı idi ( $p<0.05$ ). Deksmetomidin uygulanan gruplar arasında ise fark yoktu.



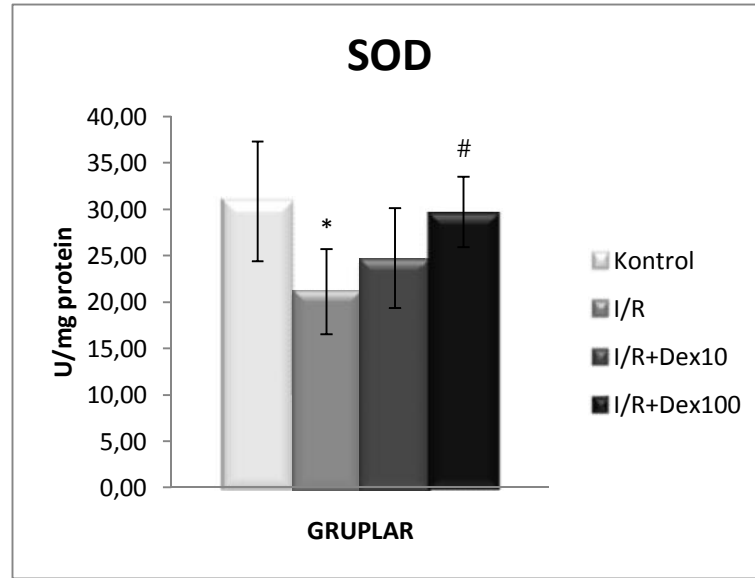
Grafik 1: Gruplardaki MDA düzeyleri. \*: Kontrol grubuna göre  $p<0.05$ , #: R grubuna göre  $p<0.05$

#### 4.2. Deksmetomidinin KC dokusunda SOD aktivitesi üzerine etkisi

skemi reperfüzyon sonrası gruplar arasındaki SOD aktivitesi tablo 6'da ve Grafik 2'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 kıyaslandı ında, Grup 4'de SOD düzeyindeki artı ın istatiksels olarak anlamlı oldu u görüldü ( $p<0.05$ ). Grup 3'de SOD düzeyinde Grup 2'ye göre artı olmasına ra men istatiksels olarak anlamlı düzeye ula madı.

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



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

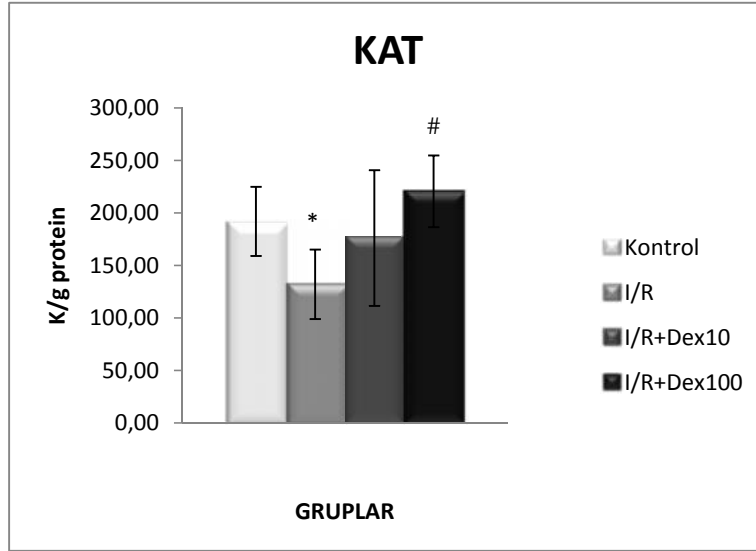
#### 4.3. Deksmetomidinin KC dokusunda KAT aktivitesi üzerine etkisi

skemi reperfüzyon sonrası gruplar arasındaki KAT aktivitesi grafik 3'de ve tablo 6' da gösterilmi tir.

Doku KAT düzeyi Grup 1 ile kıyaslandı ında Grup 2'de istatiksels olarak anlamlı dü ük bulundu ( $p<0.05$ ). Grup 3 ve 4'de ise Grup 1'e göre anlamlı bir de i im olmadı.

laç uygulanan gruplar (Grup 3 ve 4), R grubu (Grup 2) ile kıyaslandı ında, Grup 4'de KAT aktivitesinde istatiksels olarak anlamlı artı oldu u görüldü ( $p<0.05$ ). Grup 3'de Grup 2'ye göre artı olmasına ra men bu artı istatiksels olarak anlamlı düzeye ula madı.

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



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

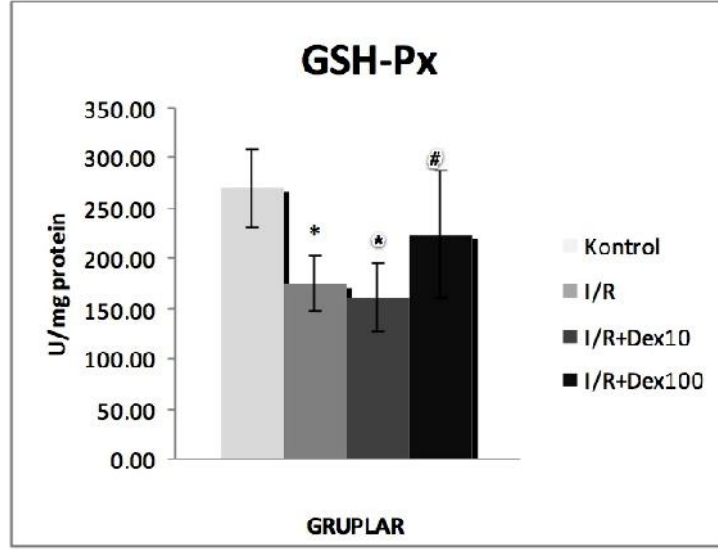
#### 4.4. Deksmetomidinin KC dokusunda GSH-Px aktivitesi üzerine etkisi

skemi reperfüzyon sonrası gruplar arasındaki GSH-Px aktivitesiGrafik 4'de ve tablo 6'da gösterilmi tir.

Doku GSH-Px düzeyi Grup 1 ile kıyaslandı ında Grup 2'de anlamlı dü ük bulundu ( $p<0.05$ ). Grup 3'de de Grup 1'e kıyasla GSH-Px düzeyi istatistiksel olarak anlamlı dü ük idi ( $p<0.05$ ). Grup 4'de ise Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir de i iklik olmadı.

Grup 4'deGrup 2'ye göreGSH-Px aktivitesinde artı olmasına ra men istatistiksel anlamlı düzeye ula madı. Grup 3 ile Grup 2 arasındada GSH-Px aktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

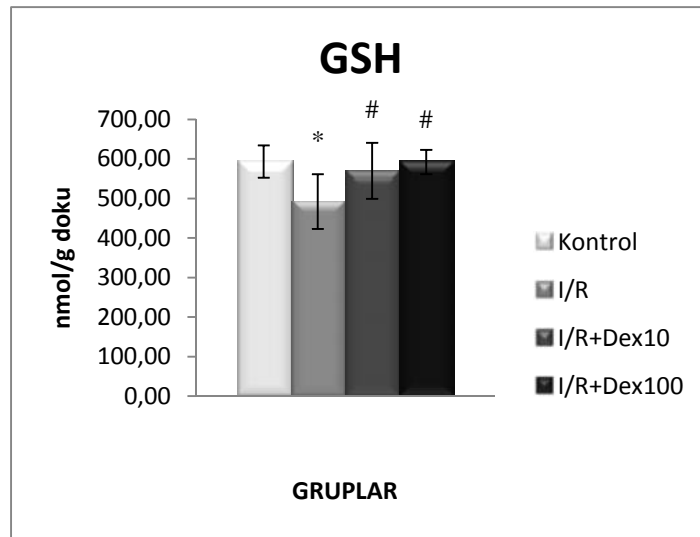
Grup 3 ve 4 arasında ise GSH-Px aktivitesi açısından istatistiksel anlamlı fark vardı ( $p<0.05$ ).



Grafik 4: Gruplardaki 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

skemi reperfüzyon sonrası gruplar arasındaki GSH aktivitesi grafik 5 ve tablo 6'da gösterilmiştir. KC dokusundaki GSH düzeyi kontrol grubu (Grup 1) ile kıyaslandığında R (Grup 2) grubunda istatistiksel olarak anlamlı düşüş bulundu. Grup 3 ve 4'de ise kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik olmadı. Deksmetomidin uygulanan her iki grup (Grup 3 ve 4) R 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: Gruplardaki GSH düzeyleri \*: Kontrol grubuna göre  $p<0.05$ , #: R grubuna göre  $p<0.05$



## 5. TARTI MA

Bu ara tırma ile deksmedetomidinin hem 10 µg/kg hem de 100 µg/kg dozlarında karaci eri R hasarına kar ı koruyucu etkisinin olabilece i gösterilmi tir. Karaci erin R hasarı bir çok klinik tabloda kar ımıza çıkabilen bir durumdur. Ancak donör hepatektomide bilinçli yapılan bir uygulamadır.

Donör hepatektomi, hem majör bir cerrahi olması hem de operasyon yapılan ki inin sa lık 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 di eri postoperatif dönemde kar ımıza çıkabilen iki çok önemli durum vardır: intraoperatif kanama ve postoperatif KC yetmezli i.

intraoperatif kanama, morbidite artı na hatta mortaliteye neden olabilen önemli bir komplikasyondur (8).Bu komplikasyonu önlemek ya da en aza indirmek için günümüzde en sık yapılan i lem Pringle manevrası adı verilen operasyon sırasında karaci erin vasküler izolasyonudur (18). Bu manevra ile tüm karaci er kan akımı geçici de olsa kesintiye u ramakta yani KC'i iskemiye maruz bırakmaktadır. skemi süresi ki isel tercihe ba lı olarak de i mekle birlikte 60 dakikanın üzerine çıkmaması genel kabul görmü bir yakla ımdır. Bu sürenin sonunda izolasyon sona erer ve kan akımı yeniden ba lar. Bu durum ise iskemiden daha zararlı etkilere yol açan reperfüzyona neden olur. skeminin zararlı etkileri iskemi sırasında olu makla birlikte, daha büyük hasarın reperfüzyon sonrasında geli ti i gösterilmi tir (145). Bu olayların tümü R hasarı olarak anılır.

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

Karaciğer R hasarı Kupffer hücre aktivasyonu, SOR üretimi, nötrofil infiltrasyonu, adezyon molekülleri 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 olduğunu göstermektedir (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 dolayısıyla hücre hasarına neden olmaktadır (149). Uzun dönem R sonrasında çeşitli dokularda SOD ve KAT gibi antioksidan enzimlerin düzeyleri düşülmüştür. SOD superoksit anyonunun hidrojen peroksit dismutasyonunu katalize eder. KAT ise hidrojen peroksiti suya metabolize eder.

İskemik reperfüzyon hasarı sonucu oluşan SOR'un olumsuz etkilediği yapılarından biri de lipidlerdir. SOR lipid peroksidasyonuna neden olur. Lipid peroksidasyonu da membran hasarına, iyon geçirgenliğini ve enzim aktivitesinin düşmesine 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).

Çalı mamızda tüm deney gruplarında MDA, SOD, KAT, GSH ve GSH-Px düzeyleri kontrol grubu ile kıyaslandı ında R grubunda, hasarın göstergeleri olarak anlamlı derecede farklı bulundu. Ratlarda karaci er iskemi reperfüzyon hasarına deksmedetomidinin etkisini ara tırdı ımız çalı mamızda R grubu ile kar ıla tırıldı ında GSH-Px aktivitesi açısından deksmedetomidinin 100 µg/kg verildi i gruptaartı olmasına ra men istatikselsel olarak anlamlı düzeye ula madı. Yine aynı grupta, SOD ve KAT düzeyindeki artı anlamlı iken, deksmedetomidin 10 µg/kg grubundakiartı anlamlı düzeye ula madı. Deksmmedetomidin 100 µg/kg grubunda doku GSH düzeylerinde anlamlı artı saptandı, deksmedetomidin 10 µg/kg grubunda GSH düzeylerinde artı vardı ancak anlamlı seviyeye ula madı. MDA düzeyleri açısından Deksmmedetomidin 10 µg/kg ve 100 µg/kg gruplarında anlamlı azalma vardı (p<0.05).

Karaci er R hasarında inflamatuvar olayların da önemli rol oynadı ı, R hasarının aynı zamanda proinflamatuvar bir olay oldu u bilinmektedir (151).

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

Hayvanlarda yapılan serebral iskemi ve reperfüzyon çalısmalarında, deksmedetomidinin serebral nekrozu azaltarak nörolojik prognozu düzeltti i gösterilmi tir. Fokal iskemi olusturulmu tav an modellerinde deksmedetomidin ve halotan kombinasyonu, tek basına halotan uygulaması ile kar ılaştırıldı ında kombinasyon grubunda daha az kortikal nöron hasarı olu tu u görülmü tür (105). Deksmmedetomidinin nöroprotektif etki mekanizmasında presinaptik 2 reseptörlerin aktivasyonu ile katekolamin salınımının inhibisyonu ve NMDA reseptör aracılı iyon kanallarının inhibisyonu sorumlu gösterilmektedir (152).

Engelhard ve ark'ı (152) çalı malarında deksmedetomidinin anti-apoptotik proteinleri artırdı ını bildirmektedir. Ayo lu ve ark'ı (153)deksmedetomidinin doza ba lı olarak subaraknoid hemorajiyi takiben geli en vazokonstriksiyon ve oksidatif hasarı azalttı ını göstermi lerdir

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

%70'lere varan dü me saptamı tır. KC'dekine benzer ekilde R hasarı sonrasında görülen renal disfonksiyonun iddeti, deksmedetomidin proflaksisi sonrasında anlamlı derecede azalmı tır. Bundan ba ka, R hasarı öncesinde veya sonrasında deksmedetomidin verilmesi üre ve kreatinindeki yükseli in anlamlı derecede hafifledi ini belirtmi tir. Daha da önemlisi, R 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 geli tirdikleri sepsis modelinde deksmedetomidinin lokal veya sistemik inflamasyona ba lı KC hasarını hafifletilebilece i böylecekaraci er organ i lev bozuklu unu engelleyebilece i gösterilmi tir.

Zhou ve ark'ı da (156) norepinefrinin Kupffer hücrelerinde  $\alpha_2$  adrenerjik yolak vasıtasıyla TNF- 'yı artırdı ını göstermi tir. Deksmedetomidin de çok güçlü  $\alpha_2$  reseptör agonisti oldu undan presinaptik  $\alpha_2$  reseptörlerin aktivasyonu ile katekolamin salınımını inhibe ederek bu yolak üzerinden karaci er iskemi reperfüzyon hasarını önlüyor olabilir.

Sonuç olarak, ratlarda yapılan deneysel karaci er iskemireperfüzyonmodelinde deksmedetomidindoza ba lı olarak karaci er oksidatif hasarını azaltmı tır. Ara tırmamızın sonuçları, deksmedetomidinin karaci er iskemi reperfüzyonhasarındaki muhtemel koruyucu rolünün daha geni deneysel ve klinik çalı malarladesteklenmesi gerekti i kanaatini do urmu tur.

## 6. SONUÇ ve ÖNER LER

Bu deneysel çalı mada rat karaci er iskemi-reperfüzyon modelinde, 10 µg/kg ve 100 µg/kg deksmedetomidinin iskemik karaci er hasarı üzerine etkileri, MDA, SOD, KAT, GSH, GSH-Px ile de erlendirilmi tir.

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

Çalı mamızda deksmedetomidinin her iki dozu da R hasarını azaltmakla birlikte 100 µg/kg'lik dozu daha etkindir.

Karaci er R hasarının klinik tedavisinde deksmedetomidin uygulaması karaci er hasarını azaltabilir.

Deksmedetomidinin karaci er R hasarına kar ı koruyucu etki mekanizmalarının aç ı a çıkarılması için ileri çalı maların yapılması uygun olacaktır.

## 7. ÖZET

**Amaç:** Karaciğer R 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 olduğunu göstermektedir.

Deksmedetomidin çok güçlü ve ileri derecede selektif bir  $\alpha_2$  reseptör agonistidir. Artan klinik kullanımına karşın karaciğer iskemisi reperfüzyon hasarına karşı deksmedetomidinin etkileri bilinmemektedir.

Çalışmamızda ratlarda, karaciğer R 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 iskemisi modeli ile 60 dakika iskemisi 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 sakrifiye edildi. Çıkarılan karaciğer dokuları alüminyum folyoya sarılarak biyokimyasal analizler yapılincaya 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 dü ü anlamlı idi ( $p<0.05$ ).

Doku SOD ve KAT düzeyleri Grup 1'e göre Grup 2'de anlamlı dü ük bulundu ( $p<0.05$ ). Grup 2'ye göre Grup 4'de anlamlı artı oldu u görüldü ( $p<0.05$ ).

Karaci er dokusundaki GSH düzeyi Grup 1'e göre Grup 2'de anlamlı dü ük bulundu ( $p<0.05$ ). Grup 2'ye göre Grup 3 ve 4'de GSH düzeylerinde anlamlı artı saptandı ( $p<0.05$ ).

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

**Sonuç:** Ratlarda yapılan deneysel karaci er R modelinde deksmedetomidinin doza ba lı olarak karaci er oksidatif hasarını azalttı ı görülmü tür. Ara tırmamızın sonuçları, deksmedetomidinin karaci er iskemi-reperfüzyon hasarındaki muhtemel koruyucu rolünün daha geni deneysel ve klinik çalı malarla desteklenmesi gerekti i kanaatini do urmu tur.

**Anahtar Kelimeler:** Karaci er, 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  $\alpha_2$  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  $\mu\text{g}/\text{kg}$  was applied into peritoneal cavity.

Group 4: 30 minutes before the ischemia, dexmedetomidine 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  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. Apoptosis, 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. ahin E, Olguner Ç, Bodur HA, ve ark. Uzak ve Do rudan skemik Ön ko ullamanın Karaci erin Reperfüzyon Hasarı Üzerindeki Etkilerinin Kar ıla tırılması. *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. Karaci er skemi 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 , Berrak ÇY. skemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Geli im* 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<sup>+</sup> 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, Padiaditakis 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, Lutt 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 PGI<sub>2</sub> 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, Ö ü tç ü 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. Ö z t ü r k F, Apopitoz, n ö n ü Ü niversitesi 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. Akku , 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 Serisi stanbul 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. DüNDAR Y, ASLAN R. Hücre Moleküler Statüsünün An ılmasında ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller Antioksidanlar, Cerrahi Tıp Bilimleri Derg. nsizyon, 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 ntestinal ischemia And Reperfusion njury. 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 peroxytrite and peroxytrite. 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. Ate B. İntestinal İskemi-Reperfüzyon Uygulamalarında De ğerli Antioksidanların Koruyucu Etkilerinin Ara tırılması (tez). Malatya: İözü 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](http://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, Özgüven 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 Sa altımında Antioksidanlar. *İlaç 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, Penttila 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, Willingers 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, Colinco 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, Samsó 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. Topalo lu Ü, Odaba ı HM, Güran M, et.al. Karaci er 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 Profılı 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, Bahadir 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, Memi 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.