T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

RATLARDA EKSTREMİTE MODELİNDE SUGAMMADEKSİN İSKEMİ REPERFÜZYON ÜZERİNE ETKİSİ

DR. ALİ ALAGÖZ

UZMANLIK TEZİ

İZMİR 2016

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON

ANABİLİM DALI

RATLARDA EKSTREMİTE MODELİNDE SUGAMMADEKSİN İSKEMİ REPERFÜZYON ÜZERİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

DR. ALİ ALAGÖZ

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. SEMİH KÜÇÜKGÜÇLÜ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ii
TABLO LİSTESİ iii
ŞEKİL LİSTESİ iv
RESİM LİSTESİ v
KISALTMALAR vi
ÖZET 1
SUMMARY 2
GİRİŞ 3
AMAÇ 3
GENEL BİLGİLER 4
İskemik Hasar 5
İskemi-Reperfüzyon Hasarı 5
Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar ve Hasar Mekanizmaları 9
Siklodekstrinler 13
Modifiye Siklodekstrinler 16
Sugammadeks 18
MATERYAL VE METOD 22
BULGULAR 29
TARTIŞMA 36
SONUÇ VE ÖNERİLER 43
KAYNAKLAR 44
Ek 1: ETİK KURUL İZİN BELGESİ 52

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, hekimlik sanatının ve anesteziyolojinin temel ilkelerini öğrendiğim hocalarım; Sayın Prof. Dr. Atalay Arkan'a, Sayın Prof. Dr. Erol Gökel'e, Prof. Dr. Semih Küçükgüçlü'ye, Sayın Prof. Dr. Ali Necati Gökmen'e, Sayın Prof. Dr. Sermin Öztekin'e, Sayın Prof. Dr. Bahar Kuvaki Balkan'a, Sayın Prof. Dr. Deniz Özzeybek'e, Sayın Prof. Dr. Leyla İyilikçi'ye, Sayın Prof. Dr. Hasan Hepağuşlar'a, Sayın Prof. Dr. Ayşe Karcı'ya, Sayın Prof. Dr. Fikret Maltepe'ye, Sayın Prof. Dr. Uğur Koca'ya, Sayın Prof. Dr. Çimen Olguner'e, Sayın Prof. Dr. Sevda Özkardeşler'e, Sayın Doç. Dr. Volkan Hancı'ya, Sayın Doç. Dr. Serhan Yurtlu'ya, Sayın Doç. Dr. Ferim Günenç'e, Sayın Doç. Dr. Yüksel Erkin'e, Sayın Yrd. Doç. Dr. Aydın Taşdöğen' e;

Tez araştırmamı yapmaya başladığım ilk günden bitimine kadar tüm çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen, destekleyen, katkı sunan danışman hocam Prof. Dr. Semih Küçükgüçlü'ye;

Tezimin hazırlanmasında ki yardımları için Sayın Doç. Dr. Volkan Hancı'ya ve Sayın Uzm. Dr. Nilay Boztaş'a, Sayın Uzm. Dr. Esma Adıyaman'a;

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım, eğitimime katkıda bulunan bölümümüz tüm öğretim üyelerine ve uzmanlarına,

Uzmanlık eğitimim boyunca heyecanını, stresini ve güzelliklerini birlikte yaşadığımız tüm asistan arkadaşlarıma;

Anestezi ve Reanimasyon ABD sekreteri Sayın Emine Çetinkaya'ya;

Anestezi teknikerleri, ameliyathane, yoğun bakım, derlenme ünitesi, ağrı ünitesi, gündüz hastanesi hemşire ve personeli ve tanıma fırsatı bulduğum tüm hastane çalışanlarına;

Hayatı benimle paylaşan, hep yanımda olan, sevgisini her zaman hissettiğim canım eşim Çağla Yıldız Alagöz'e;

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr. Ali ALAGÖZ

TABLO LİSTESİ

Tablo.1. Siklodekstrinlerin özellikleri

Tablo 2. Gruplar arası histolojik değerlendirme

Tablo 3. Grupların doku ve serum SOD değerleri

Tablo 4. Grupların doku ve serum MDA değerleri

Tablo 5. Grupların CK ve LDH değerleri

Tablo 6. Grupların kan gazı değerleri

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Lökositlerin damar endoteli ile etkileşim mekanizması

Şekil 2. α, β ve y- siklodekstrinlerin kimyasal yapısı

Şekil 3. Siklodekstrinlerin 3 boyutlu yapıları

Şekil 4. Modifiye olmamış gamma-siklodekstrin ve modifiye gamma-siklodekstrinlerin yapısı

Şekil 5. Deneysel İskemi Reperfüzyon Modeli

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Ratın sağ alt ekstremitesine elastik bandaj uygulanması

Resim 2. Ratta alt ekstremitede kan akımı kesilmesinin Doppler ile gösterilmesi

Resim 3. Çizgili kas dokusuna ait fotomikrograf (H&E X 200)

Resim 4. Çizgili kas dokusuna ait fotomikrograf (Masson Trikrom X 200)

KISALTMALAR

İ/R	:İskemi reperfüzyon
İRH	:İskemi reperfüzyon hasarı
İV	:İntravenöz
İP	:İntraperitoneal
ATP	:Adenozin Trifosfat
ER	:Endoplazmik retikulum
SOR	:Serbest oksijen radikalleri
Cu	:Bakır
Fe	:Demir
Ca^{++}	:Kalsiyum
Na^{+}	:Sodyum
Se	:Selenyum
Zn	:Çinko
O_2^{-}	:Süperoksit
H_2O_2	:Hidrojen peroksit
OH	:Hidroksi radikali
H^{+}	:Hidrojen atomu
HO_2^{-}	:Hidroperoksil radikali
$ONOO^{-}$	:Peroksinitrit
MDA	:Malondialdehid
KAT	:Katalaz
KO	:Ksantin oksidaz
KD	:Ksantin dehidrogenaz
GPO	:Glutatyon peroksidaz
SOD	:Superoksit dismutaz
LDH	:Laktat dehidrogenaz
CK	:Kreatin kinaz
NADPH oksidaz	:Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz
PAF	:"*Platelet-activating factor*" Trombosit aktive edici faktör
LTB4	:Lökotrien B4
TNF-α	:Tümör nekrozis faktör
IL–1-β	:İnterlökin–1-β
SD	:Siklodekstrin
SGTaz	:Siklodekstrin glikoziltransferaz enzimi
Sgdx	:Sugammadeks

ÖZET

RATLARDA EKSTREMİTE MODELİNDE SUGAMMADEKSİN İSKEMİ REPERFÜZYON ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Ali Alagöz

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı İzmir/Türkiye.

Amaç: Bu çalışmada ratlarda alt ekstremiteye turnike uygulanarak oluşturulan İ/R modelinde, intravenöz (iv) yolla 4 mg/kg ve 16 mg/kg dozlarında verilen sugammadeksin iskelet kası İ/R hasarında etkisini değerlendirmek amaçlandı.

Materyal metod: Erkek Wistar ratlarda anestezi verilmesini takiben sağ alt ekstremiteye 3 saat iskemi ve 24 saat reperfüzyon uygulandı. Çalışmaya, her birinde 7 denek bulunan 4 grup dahil edildi. Denekler Grup Sham (n=7), Grup Kontrol (İ/R, Kontrol, n=7), Grup Sgdx 4 mg/kg (İ/R, 4 mg/kg sugammadeks, n=7), Grup Sgdx 16 mg/kg (İ/R, 16 mg/kg sugammadeks, n=7) gruplarına ayrıldı. Sugammadeks 3 saatlik iskeminin ardından kuyruk veninden uygulandı. Reperfüzyon dönemi bitiminde gastrokinemius kasından örnekler alınarak, ışık mikroskobunda incelendi. Biyokimyasal testler için kardiyak ponksiyon ile tüm kanları alındı, aynı zamanda bu yöntemle çalışma sonlandırılıp ratların sakrifiye edilmesi sağlandı.

Bulgular: Işık mikroskopi ile yapılan çalışmada kontrol grubunda (İ/R, Sham, n=7), sham grubuna göre (n=7) göre belirgin doku hasarı tespit edildi, inflamatuar hücre açısından sham grubuyla anlamlı olarak farklı bulundu ($p<0.05$). MDA değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Sham ve kontrol grubu arasında CK ve LDH artışı açısından istatiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Sugammadeks 4 mg/kg ve 16 mg/kg verilen gruplarla kontrol grubu arasında CK düşüşü açısından fark bulundu ($p<0.05$). Kontrol grubu ile sugammadeks 4 mg/kg tedavi verilen grup arasında pH, pCO_2 değerleri açısından fark bulundu ($p<0.05$). Kontrol grubu ile sugammadeks 16 mg/kg tedavi verilen grup arasında pO_2 değerleri açısından istatiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$).

Sonuç: Sonuç olarak 4 mg/kg dozunda verilen sugammadeksin hem histolojik hem de biyokimyasal olarak 16 mg/kg dozuna göre daha etkili olabileceği sonucuna vardık.

Anahtar kelimeler: İskemi reperfüzyon, sugammadeks, alt ekstremite, rat

SUMMARY:

EFFECT OF SUGAMMADEX ON ISCHEMIA REPERFUSION IN A RAT EXTREMITY MODEL

Dr. Ali Alagöz

Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Anesthesiology and Reanimation Department, Izmir/Turkey

Aim: The aim of this study was to assess the effect of 4 mg/kg and 16 mg/kg intravenous (iv) doses of sugammadex on skeletal muscle I/R injury in an I/R model induced by applying a tourniquet to the lower extremity of rats.

Material method: After anesthesia, male Wistar rats had 3 hours of ischemia applied to the right lower extremity followed by 24 hours of reperfusion. The study comprised 4 groups containing 7 subjects each. The subjects were divided into the following groups; Group Sham (n=7), Group Control (I/R, control, n=7), Group Sgdx 4 mg/kg (I/R, 4 mg/kg sugammadex, n=7) and Group Sgdx 16 mg/kg (I/R, 16 mg/kg sugammadex, n=7). Sugammadex was administered through the tail vein after 3 hours of ischemia. At the end of the reperfusion period samples were taken from the gastrocinemius muscle and investigated with a light microscope. Blood samples were obtained for biochemical tests with cardiac puncture; this method was simultaneously used to end the study and sacrifice the rats.

Results: Light microscope studies identified clear tissue injury in the control group (I/R control, n=7) compared to the sham group (n=7). In terms of inflammatory cells, there were significant differences compared with the sham group ($p<0.05$). There was no statistically significant difference in terms of MDA values ($p>0.05$). The increase in CK and LDH was found to be statistically significantly different between the sham and control groups ($p<0.05$). There was a difference between the sugammadex 4 mg/kg and 16 mg/kg treatment groups compared with the control group in terms of CK fall ($p<0.05$). The pH and pCO_2 values were different in the control group and the sugammadex 4 mg/kg treatment group ($p<0.05$). There was a statistically significant difference between the control group and the sugammadex 16 mg/kg treatment group in terms of pO_2 values.

Conclusion: We conclude that 4 mg/kg sugammadex may be more effective both histologically and biochemically compared to the 16 mg/kg dose.

Key Words: Ischemia reperfusion, sugammadex, lower extremity, rat

GİRİŞ

İskemi reperfüzyon (İ/R), doku ya da organa giden kan akımında bir süre azalma veya kesilme sonrasında yeniden kanlanma olarak tanımlanır (1). Reperfüzyon dokularda iskeminin oluşturduğu hasardan daha fazla hasarlanmaya yol açabilir; buna iskemi reperfüzyon hasarı denir (2). Serebral iskemi, inme, hemorajik şok, aort/periferik arter çapraz-klempleme, tromboemboli, miyokard infarktüsü, turnike uygulaması ve organ nakli gibi cerrahi girişimlere ve trombolitik tedaviye bağlı olarak ortaya çıkan fizyopatolojinin temelinde İ/R hasarı vardır (3).

İskelet kasındaki iskemi, genellikle alt ekstremitede olmak üzere travma, kanama, damar tıkanıklığı ve tromboembolik oluşumlarla beraber görülür (4). Alt ekstremitede İ/R sık karşılaşılan ve klinik açıdan önemli bir olaydır. Ekstremite iskemisini takiben reperfüzyon döneminde sistemik komplikasyonlar başta olmak üzere belirgin morbidite ve mortalite artışı olur. Lokal olarak ödem, kas nekrozu meydana gelirken, reperfüzyonda ilerleyen süreçte sistemik inflamatuvar yanıt ve çoklu organ yetmezliği gibi sorunlar ortaya çıkabilir (5).

Birçok ameliyatta kullanılan turnike, bir İ/R modelidir. Kansız ortam sağlayarak ameliyatı kolaylaştırması, kanamayı azaltarak transfüzyon ihtiyacını sınırlaması ve ameliyat süresine etkisi turnikenin avantajlarındandır (6).

İ/R'da etkinliği değerlendirmek üzere birçok ajan daha önce çalışılmıştır. Bunlardan bir tanesi de beta siklodekstirinlerdir; İ/R'da kullanılmış ve etkinliği gösterilmiştir. Siklodestrin ailesinden olan diğer bir ajan ise gama siklodekstrin olan sugammadekstir ve anestezi pratiğinde çok sık kullanılmaya başlanılmıştır. Ancak literatürde gama siklodekstirinlerin kas İ/R hasarında etkinliğini araştıran bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Biz de bu nedenle sugammadeksin İ/R'da etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık.

AMAÇ

Çalışmamızın amacı ratlarda alt ekstremiteye turnike uygulanarak oluşturulan İ/R modelinde, intravenöz (iv) yolla 4 mg/kg ve 16 mg/kg dozlarında verilen sugammadeksin iskelet kası İ/R hasarında etkisini değerlendirmektir.

GENEL BİLGİLER

İskemi ve reperfüzyon hasarı (İRH) en önemli hücre hasarı tiplerinden biridir. Özellikle angina pektoris ve miyokard infarktüsü gibi koroner arter hastalıkları ve onların tedavi protokolleri (trombolitik tedavi, balon anjioplasti ve kardiyopulmoner bypass) sonucunda ortaya çıkabilen patolojik bir hadisedir (2,3). Ayrıca okluziv arter hastalıkları, aortik/periferik arter çapraz-klempleme, inme, turnike uygulaması, organ transplantasyonu, miyokütanöz doku transferi ve ampute olmuş kısımların replantasyonu gibi klinik durumlarda da görülebilir (3). Bu durumların önemli bir bölümü genel anestezi altında görülebilen durumlardır. Bu nedenle genel anestezi esnasında, belli durumlarda, İRH'nin hastaların morbidite ve mortalitesine etkisi hesaba katılmalı ve bazı önlemler alınmalıdır. Yukarıda ifade edildiği gibi, yaygın olarak çok farklı dokularda meydana gelebilen bu durum, fizyopatolojik olarak iskemik hasar ve İRH şeklinde sınıflandırılabilir (2).

İskemik Hasar

Bir dokuya giden kan akımı azaldığında ya da kesildiğinde, o dokuya ait hücrelerin fonksiyon bozukluğu ile başlayan ve hücre ölümüne kadar gidebilen bir dizi patolojik olay olarak iskemik hasar gerçekleşir. Hücresel fonksiyonların devam etmesi için gerekli temel yakıt oksijendir; bunun nedeni, normal hücre fonksiyonları için gereken yüksek enerjili fosfat bağlarının aerobik metabolizma ile sağlanmasıdır (7).

Reversibl iskemik hasar

Dokuda iskeminin doğal bir sonucu olarak hipoksi gelişir ve buna bağlı olarak hücrenin aerobik solunumu durur, hücrenin temel enerji kaynağı olan Adenozin Trifosfat (ATP) azalır ve hücrede ATP'ye bağımlı birçok fonksiyonda azalma ve bunlarla birlikte çeşitli yapısal bozukluklar meydana gelir. ATP azalınca hücre membranında bulunan Na^+/K^+-ATPaz pompası yavaşlar; bunun sonucunda hücre içinde Na^+ ve Ca^{++} konsantrasyonu artarken K^+ konsantrasyonu azalır. Bu iyonlar hücre ve endoplazmik retikulumun su alarak şişmelerine neden olur. Hücrede oksijen azalınca glikoliz devreye girer ve hücre içinde pH düşer. pH'da ki azalma nükleustaki kromatinde kümeleşmeye, lizozomların salıverilmesine ve buna bağlı olarak membran hasarına neden olur. Ribozomlar endoplazmik retikulumdan ayrılırlar ve böylece protein sentezi azalır (8). Biyokimyasal ve patolojik bozulmalar iskemi ortadan kalktığında geriye dönebilir; fakat bu sağlanmazsa ATP'deki azalma daha da şiddetlenir ve dokudaki hasar irreversibl sınıra yaklaşır (8).

İrreversibl iskemik hasar

İskemik hasarın reversibl dönemden irreversibl döneme geçişinin biyokimyasal göstergeleri tam olarak bilinmemektedir. Buna rağmen bunun habercisi olan bazı morfolojik değişiklikler saptanmıştır (8). Bununla ilişkili önemli morfolojik değişiklik sitoplazma membranı hasarıdır ve bunun oluşumuyla ilgili olduğu ileri sürülen bazı mekanizmalar vardır (8). ATP tükenmesi sitoplazma membranının temelini oluşturan fosfolipid kaybına neden olur. Bunun sonucunda, fosfolipid biyosentezinde azalma ve yükselen intrasellüler Ca^{++}'un fosfolipazı aktive edip fosfolipid yıkımını arttırmasına bağlıdır. Ca^{++}'un artması proteazı aktive eder ve membranla ilişkili hücre iskeletinin yıkılmasına neden olur. Serbest oksijen radikalleri (SOR) lipid peroksidasyonu yaparak membran hasarı meydana getirir. Sitoplazma membranı bütünlüğünü kaybedince hücre içerisine Ca^{++} akışı olur; içeri giren Ca^{++}'un önemli kısmı mitokondrilere transfer edilir ve mitokondrilerin şişmesine ve fonksiyon kaybına neden olur (8). Daha sonra lizozomal membran hasarı oluşur; bunların yapılarından açığa çıkan enzimler hücre sindirimine yol açar ve sonuçta oluşan bir seri olayın ardından hücre ölümü gerçekleşir (8).

İskemi-reperfüzyon hasarı

Reperfüzyon, iskemiye neden olan etkenin ortadan kaldırılarak dokuya kan akımının yeniden sağlanmasıdır (2). Reperfüzyon iskemik dokuya enerji ihtiyacını sağlar ve toksik metabolitleri uzaklaştırır. Bundan dolayı reperfüzyon, iskemik hasarın düzeltilebilmesi için gereklidir. Bazen doku iskemiden sonra reperfüzyona uğrarsa, iskeminin neden olduğu hasarın azalması beklenirken bunun tersi oluşabilir. Bunun mekanizmasını açıklamaya yönelik bir takım görüşler ortaya atılmıştır. Bunlardan biri iskemi vasıtasıyla hücrelerin hasara karşı duyarlılığının artabileceği ve reperfüzyon sırasında ortaya çıkan bazı zararlı etkenlerin hücrelere zarar verebilecekleri görüşüdür (8). Duyarlılığı artmış hücrelere zarar verebilen en olası etkenin SOR olduğu ileri sürülmüştür. Bunların endotel, parankimal ve nötrofil hücrelerinden kaynaklandığı ifade edilmiştir (8). SOR en başta lipid peroksidasyonuyla membranlara zarar verebilir; ayrıca protein, DNA ve mitokondrilere de etki edebilirler (8). Reperfüzyonla birlikte hücre içine Ca^{++} girişinin çok fazla arttığı ve bunun sonucu Ca^{++}'un özellikle mitokondrilerde birikmesinin reperfüzyon hasarının temelini oluşturduğu yönünde kanıtlar mevcuttur (8).

Çizgili kas iskemi-reperfüzyon hasarı

Çizgili kas İRH; klinikte periferik arter hastalıkları cerrahisi için aort klemplenmesi, trombo-embolik oklüzyon sonrası sağlanan reperfüzyon, arter greftleme operasyonları, ekstremite replantasyonları, ezilme yaralanmaları ve bazı ortopedi ameliyatlarında uygulanan turnike iskemisi şeklinde görülür. Bu patolojik olaydan sorumlu olabilecek bir dizi mekanizma söz konusudur: SOR, proinflamatuar medyatörler, lökosit infiltrasyonu, Ca^{++} yüklenmesi, fosfolipid peroksidasyonu ve azalması, bozulmuş nitrik oksit metabolizması ve azalmış ATP sentezidir (9).

Serbest oksijen radikalleri

Serbest oksijen radikalleri vücudun normal döngüsü sırasında değişik yollarla açığa çıkabilir. Hücre sitoplazma membranındaki NADPH oksidaz, endoplazmik retikulumda bulunan P-450 oksidazlar, peroksizomlardaki oksidazlar, sitoplazmadaki bazı enzimler ve mitokondriyal oksidatif fosforilasyon sistemi super oksit anyon (O_2^-) meydana gelmesinde temel oluştururlar (10). Ayrıca, patolojik şartlarda dokuya nüfuz eden lökositler de SOR oluşumuna katkıda bulunurlar (10).

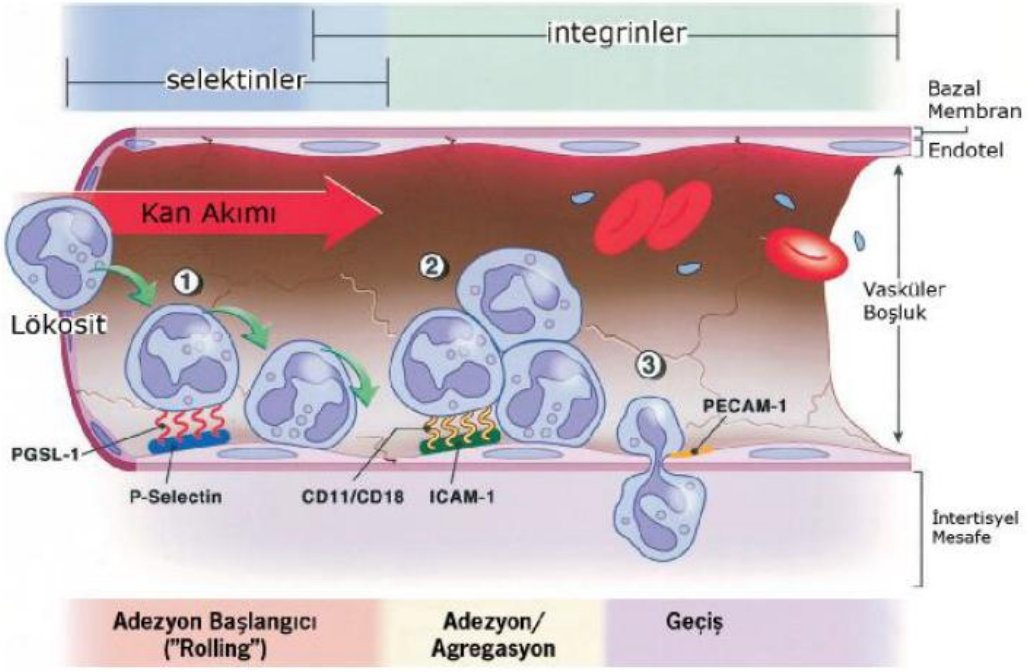
Serbest oksijen radikallerinin, iskemik çizgili kasın reperfüzyonundan sonra oluştuğu ve bunun doku hasarının temel bileşeni olduğu uzun zamandır bilinmektedir (10). Reperfüzyon sırasında dokuya tekrar sunulan oksijenin, SOR'un oluşmasını potansiyalize edebileceği yönünde kanıtlar bulunmuştur. Bunu destekleyen bir bulgu, oksijen miktarı azaltılmış reperfüzatlarla reperfüzyona uğratılan dokularda, hasarının azaldığının gösterilmiş olmasıdır (11, 12). İskemi-reperfüzyon hasarında SOR'un rolü olduğunu destekleyen diğer kanıtlar, ksantin oksidazı inhibe eden allopurinol, O_2^-'nu yıkan SOD, H_2O_2'i yıkan katalaz (KAT) ve OH^-'ni nötralize eden dimetilsülfoksid verilmesinin doku hasarını azalttığını gösteren çalışmalarla gelmiştir (13). Bu nedenle özellikle çizgili kastaki İRH'de ksantin oksidaz kaynaklı SOR'un ve bunlardan da yukarıda sayılan üçünün rolü olabileceği ileri sürülmüştür (13). Buna ek olarak, desferoksamin ve apotransferrin gibi Fe şelatörleri verilen dokularda İRH'nin azaldığı ve dolayısıyla fenton reaksiyonu ile H_2O_2'den oluşan OH^-'nin bu olaya katkısının olduğu düşünülmüştür (14). Ayrıca, fenton reaksiyonu sonucu oluşan OH^-'nin lipid peroksidasyon yaparak membran hasarına neden olduğu, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyleri ölçülerek değerlendirilmiş ve desferoksaminin MDA düzeylerini azalttığı tespit edilmiştir (15). OH^-'nin yukarıda bahsedilen yolak dışında kaynakları olabileceği de ileri sürülmüştür: Buna göre O_2^- ile nitrik oksit (NO)'in birleşmesiyle peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşmakta, bu da OH^-'ne dönüşmektedir (16). SOR'un

nasıl etki ettiği ile ilgili iki temel görüş vardır. Bunlardan birine göre SOR hücrelerdeki yapısal ve fonksiyonel rolleri olan kontraktil ve transport proteinlere, enzimlere, reseptörlere, nükleik asit ve membran lipidleri gibi moleküllere etki ederek bunların işlevlerini bozar (17). Özellikle membran lipidlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan membran hasarı neticesinde hücre içine kalsiyum girişi artabilir ve sonuçta hücre hasarı meydana gelebilir (17). Ayrıca SOR proteolitik reaksiyonları hızlandırarak da doku yıkımına yol açabilirler (17). İkinci durumda ise SOR'un lökosit migrasyonuna yol açarak doku hasarına sebep olduğu düşünülmektedir. SOR'un bu etkisini nasıl yaptığı ile ilgili bir dizi hipotez vardır. Bunlar; kemotaktik stimülanların (platelet aktive edici faktör, lökotrien B4 gibi) arttırılması, kompleman aktivasyonu, antiadhesiv bir molekül olan NO' nun yıkılması ve adhezyon moleküllerinin ekspresyonunun artmasıdır (17).

Lökosit infiltrasyonu

Serbest oksijen radikallerinin önemli bir kaynağı aktive olmuş lökositlerdir. Bu hücreler ayrıca salıverdikleri sitotoksik enzimler ve mikrosirkülasyonda oluşturdukları obstrüksiyonla da İRH'ye katkıda bulunabilirler. Çizgili kasta, iskemi-reperfüzyon periyodundan sonra lökositlerin biriktiği gösterilmiştir (18). ATP-$MgCI_2$, iloprost ve adenozin gibi lökosit metabolizmasını inhibe eden ilaçların İRH'yi önlediği saptanmıştır (19, 20). Bu bulgulara paralel olarak, reperfüzyon lökosit düzeyleri düşürülmüş kanla yapıldığında hasarın belirgin derecede azaldığı bulunmuştur (21, 22). Köpeklerde yapılan bir çalışmada, lökosit miktarı azaltılmış kanla reperfüzyon yapılmış, bu uygulamayla SOR'a bağlı lipid peroksidasyonunun ve doku nekrozunun azaldığı bulunmuştur. Bu bulgulara dayanarak lökosit kaynaklı SOR'un bu patolojide rolünün olabileceği ileri sürülmüştür (23). Adhezyon lökositlerin dokuya nüfuz edebilmelerinin ön koşuludur. Bugüne kadar yapılan çalışmalar adhezyon olayında rol alan bazı moleküllerin varlığını göstermiştir. Bunlar; CD11a/18, CD11b/18 ve CD11c/18 gibi lökosit integrinleri, endotelyal intersellüler adhezyon molekülü, L-selektin (lökosit yüzeyinde), E-selektin (endotel yüzeyinde) ve P-selektin (endotel yüzeyinde) gibi selektin ailesinin üyeleridir (24). Başlangıçta ki adhezyona E-selektin, P-selektin ve L-selektin aracılık eder; böylece adhezyona uğramış lökositler kompleman 5a (C5a), lökotrien B4, interlökin-8 ve platelet aktive edici faktör (PAF) vasıtasıyla aktive edilirler ve yüzeylerinde kompleman 11b/18 (CD11b/18) molekülleri belirir; CD11b/18 ve ayrıca endotelyal intersellüler adhezyon molekülü etkinliği sonucu daha önce oluşan adhezyon güçlenir ve transendotelyal migrasyon oluşur (25) CD11/CD18'in antikorlarla etkisiz hale getirilmesi, iskelet kasında iskemi sonrası ortaya çıkan kontraktil disfonksiyonun

(26), mikrovasküler bariyer yıkımının (21) ve myosit nekrozunun (27) azalmasına yol açtığı tespit edilmiştir. Ayrıca, iskelet kasında iskemi sonrası ortaya çıkan "no-reflow" fenomeninin anti-endotelyal intersellüler adhezyon molekülü antikorları vasıtasıyla azaldığı bulunmuştur (28).



Şekil 1: Lökositlerin damar endoteli ile etkileşim mekanizması (29)

(PGSL-1: P-selektin glikoprotein 1; CD11b/CD18: Lökosit fonksiyon antijeni 1; ICAM-1: **"***Endothelial intercellular adhesion molecule 1"* Endotelyal hücre içi adezyon molekülü-1; PECAM: "P*latelet-endothelial cell adhesion molecule 1"* Trombosit-endotel adezyon molekülü-1

Fosfolipid metabolizması

Fosfolipidler hücre membranının reseptör, enzim ve iyon kanal fonksiyonlarını düzenleyen temel yapıtaşları olduklarından hücre bütünlüğü için vazgeçilmezdir. İskemi-reperfüzyon hasarında membran fosfolipidlerinin yapısı çeşitli yollarla bozulabilir. Bunlar; SOR'a bağlı lipid peroksidasyonu, fosfolipaz aktivasyonu sonucu yıkım artması ve de novo fosfolipid sentezinin azalmasıdır. Sonuç olarak kalsiyum permeabilitesi ve hücre ölümü artabilir. Çizgili kasta İRH'den sonra fosfolipid kaybının varlığı saptanmıştır (23).

Eikosanoid metabolizması

Reperfüzyon iskemik çizgili kasta ve myokardiyumda eikosanoid sentezinin artmasına yol açar (30). Eikosanoid artışının kaynağının nötrofiller olabileceği düşünülmektedir. Çizgili kasta lökotrien B4, lökotrien C4, lökotrien D4 ve lökotrien E4 gibi eikosanoidlerin nötrofil aktivasyonuna aracılık ettiği gösterilmiştir (31).

Sitokinler

Çizgili kasta, interlökin-1 ve tümör nekroz faktör-alfa (TNFα) iskemi-reperfüzyonundan sonra salıverilirler. Sitokinler lökosit aracılı hasarı; lizozom salıverilmesinin fazlalaşması, O_2^- üretiminin artması, nötrofil kemotaksisinin belirginleşmesi ve endotele adhezyonunu kolaylaştırması yoluyla artırırlar (32).

İnterlökin-1 antikoru ve reseptör antagonistleri ile elde edilen ve lökosit infiltrasyonu ve membran permeabilitesinin azaltıldığını gösteren çalışmalar, bu sitokinin çizgili kas İRH'de rolü olduğunu desteklemiştir (32). Ayrıca interlökin-6'nın da çizgili kas İRH'de yükseldiği saptanmıştır (32).

Serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar ve hasar mekanizmaları

Serbest oksijen radikalleri

Moleküllerdeki atomlar uzayda bir yer kaplar ve bu yere orbita denir. Her orbitalde biri saat yönünde diğeri ise tersi yönde hareket eden iki elektron bulunur. Eğer bir orbitalde sadece bir elektron bulunursa buna eşleşmemiş elektron adı verilir. Serbest oksijen radikalleri (SOR) en dış orbitalinde eşleşmemiş elektron taşıyan, elektrik yüklü veya elektrik yüksüz olabilen atom veya moleküllerdir. Çok kısa yaşam süreli ancak yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif olan serbest radikaller, tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedir (33). Vücutta bulunan en temel serbest radikaller aşağıda sıralanmıştır.

Süperoksit anyonu

Süperoksit anyonu hücrede enerji metabolizmasında oksidasyon sırasında ya da oksidazlar gibi bazı enzimlerin aktivitesi sonucu oluşur. O_2^- SOD adlı enzimle inaktive edilir (33). O_2^- fagositlerin bakterisit etkilerinin temel mekanizmasını oluşturur, aynı zamanda iltihabi olaylarda normal dokulara bile zarar verebilecek aracıdır (34).

Hidrojen peroksit

Süperoksit anyonundan SOD enzimi vasıtasıyla oluşan daha az toksik bir radikaldir (33). Katalaz ve/veya glutaton peroksidaz enzimiyle H_2O ve O_2'ye çevrilerek etkisiz hale getirilir (7).

Hidroksil radikali

Hidroksil radikali birkaç yolla oluşur: Suyun hidroliziyle hidrojen radikalleri ve OH^- oluşabilir (34). Aynı zamanda H_2O_2 üzerinden Fe ve Cu' ın rol aldığı fenton reaksiyonuyla da oluşur (33). Diğeri de Haber-Weiss reaksiyonudur ($H_2O_2+O_2 \rightarrow OH^-+OH^-+O_2$). OH^- radikalleri en reaktif serbest radikallerdir ve vücuttaki serbest radikal hasarının en önemli sorumlularıdır (34). Bu radikal glutatyon peroksidaz (GPO) enziminin rol aldığı bir reaksiyonla H_2O'ya indirgenir (33).

Hipoklorit

Nötrofillerin bünyesinde bulunan myeloperoksidaz enziminin etkisiyle hidrojen peroksitten oluşur (33).

Nitrik oksit

Yapılan çalışmalarda nitrik oksit (NO)'nun kardiyovasküler, solunum, üriner, gastrointestinal ve sinir sistemindeki farklı birçok fizyolojik olayda rolü olduğunu göstermiştir. Nitrik oksitin birçok hastalıkta fizyopatolojik mekanizmalarda rolünün olabileceğine dair kanıtlar tespit edilmiştir (33). Aslında endojen NO'nun birbirinden farklı ve paradoksal olan dual etkisinin olduğu düşünülmektedir: Düşük konsantrasyonlarda NO'nun faydalı etkiler gösterebileceği ve yüksek konsantrasyonda ise zararlı olabileceği iddia edilmiştir (35).

Peroksinitrit

Süperoksit anyonu ile NO'nun etkileşmesi ile oluşan bir serbest oksijen radikalidir (33). Ya daha toksik olan OH^-'ne ve beraberinde nitrojen diokside dönüşür ya da indirgenmiş glutatyonla birleşerek bir endojen NO donörü olan S-nitrozoglutatyon'a dönüşür (33).

Antioksidanlar

Organizmada SOR oluşmasına rağmen antioksidan savunma sistemleri ile oksidasyon arasındaki dinamik dengeden dolayı zararlı etkiler ortaya çıkmaz (36). Bu dengenin korunması organizmanın canlılığını sürdürebilmesi için çok önemlidir. Antioksidan miktarının serbest radikalleri kompanse edememesi durumunda oksidatif stres olarak tanımlanan durum meydana gelir (37). Fizyolojik ve patolojik olaylar sonucu dengenin oksidasyon lehine değişmesi durumunda oksidatif hasar gelişebilmektedir. Antioksidanlar hedef moleküllerdeki hasarı engelleyen ya da geciktiren maddeler olarak tanımlanmaktadır (38). Antioksidanlar serbest radikal oluşumunu engelleyerek, oluşan radikali etkisizleştirerek, serbest radikalin oluşturduğu oksidatif hasarı önleyerek ve hasarlanmış molekülleri tamir ederek etki gösterirler (39).

Organizmada çok çeşitli antioksidan sistemleri vardır. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPO), glutatyon reduktaz ve glutatyon transferaz en önemli antioksidan enzimlerdir (40).

Süperoksit dismutaz

Süperoksit dismutaz, O_2^-'nun H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eden bir enzimdir; aerobik tüm hücrelerde bulunan ve oksijen toksisitesine karşı organizmadaki ilk savunma sistemidir. Organizmada oksidatif stresin arttığı durumlarda SOD enzim aktivitesini artırarak koruyucu rol oynar (34). Bir metalloprotein yapısında olup içerdiği metal iyonuna göre hücrede 3 izoenzimi tanımlanmıştır: 1) SOD1; sitoplazmik yerleşim gösteren, Cu/Zn-SOD, 2) SOD2; mitokondride bulunan, Mn-SOD, 3) SOD3; ekstrasellüler ortamda bulunan tip (41).

Katalaz

Glikoprotein yapısında 4 hem grubu içeren, bilinen en hızlı enzimlerden biridir ve hücre içerisinde yoğun olarak peroksizomlarda bulunur; görevi H_2O_2'i oksijen ve suya dönüştürmektir; bu yolla daha toksik olan hidroksil radikallerinin oluşumunu önler (42).

Glutatyon peroksidaz

Glutatyon peroksidaz, hücre içi enzim olup aktif merkezinde selenosistein içerir. H_2O_2 ve lipid hidroperoksitlerini katalizleyerek hücre membranını hasarlanmadan korur (43). Eritrositlerde oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GPO tarafından katalizlenen

glutatyon redoks siklusu, H_2O_2 miktarını düşürerek, superoksit radikalleri arasındaki reaksiyon zincirini kırar (44).

Glutatyon redüktaz

Glutatyon redüktaz dokularda antioksidan aktiviteye sahip en önemli enzimlerden biridir. Bu enzim hücreleri oksidatif hasardan korur (45). Glutatyon redüktaz Se koenzimine sahiptir. Yükseltgenmiş glutatyonu NADPH varlığında indirgenmiş glutatyona çevirir (43).

Glutatyon

Glutatyon, karaciğerde çok yüksek konsantrasyonlarda bulunan tripeptid yapısında önemli bir antioksidandır. GPO tarafından katalizlenen glutatyon redoks siklusu, H_2O_2 miktarını düşürerek, superoksit radikalleri ve yüksek reaktif hidroksil radikalleri arasındaki reaksiyon zincirini kırar (45).

Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz

Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enzimi, pentoz fosfat yolunun ilk reaksiyonunu katalizleyen enzimdir. Pentoz fosfat yolunun temel işlevi NADPH ve değişik şeker fosfatlarını üretmektir. (46). Vücutta antioksidan olarak çalışan, suda çözünen bazı maddeler de vardır: Vitamin C, ürik asit, glukoz ve sistein. Benzer olarak yağda çözünen moleküller de bulunur: Vitamin E, β-karoten, bilirubin, ubikinol ve flavanoidler. Ayrıca metal iyonlarını bağlayan maddeler; ferritin, transferin, haptoglobin, hemopeksin, seruloplazmin ve albumindir (40).

Hasar mekanizmaları

Serbest radikal, radikal olmayan bir molekülle reaksiyona girerse, birçok reaksiyondan oluşan reaksiyon zincirlerini başlatır (47). SOR paylaşılmamış elektronlarından dolayı lipid, protein, karbonhidrat, nükleik asit gibi çeşitli makromoleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar. Bu hasarlanma özetle aşağıdaki şu mekanizmalarla olur (37).

Lipid peroksidasyonu

Serbest radikallerin hücrede başlattığı en önemli ve zararlı etki lipid peroksidasyonudur. Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle oksidasyonuna lipid peroksidasyonu denir. Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan kuvvetli yükseltgen bir radikalin etkisiyle membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asidi zincirindeki alfa metilen gruplarından bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Dokularda bu radikalin

O_2^- ile OH^-'nin olduğu kabul edilmektedir. Bu radikallerin başlattığı peroksidasyon zincirleme bir reaksiyondur ve lipid zinciri bitene kadar ya da reaksiyon bir antioksidan tarafından durdurulana kadar devam eder. Sonuçta membran bütünlüğü bozulur ve hücre ölümüne yol açan süreçler meydana gelir (48).

Protein oksidasyonu

Serbest radikaller ile oluşan protein oksidasyonu, proteinlerin bağlanma özelliklerinde ve enzim aktivitelerinde farklılaşmaya neden olarak hücre fonksiyonlarında bozulmalara yol açabilir (48).

DNA oksidasyonu

Serbest oksijen radikalleri adenin ve piridin nükleotid durumlarının sürdürülebilmesi için gerekli yollara engel olabilirler. Serbest oksijen radikalleri DNA ile tepkimeye girerek mutajenik olan 8-hidroksiguanin'in meydana gelmesine neden olurlar (48).

Kovalent bağlanma

Serbest radikaller polisiklik hidrokarbonlar, aromatik aminler, nitrozamin gibi ksenobiyotiklerin çeşitli biyomoleküllere kovalent bağlanmasına neden olabilir. Bu da doğrudan hücre hasarına yol açabilir (48).

Kalsiyum

Hücre yaralanması ile ilgili olduğu düşünülen bir elementtir. Kalsiyumun transportunu engelleyen herhangi bir durum hücre fonksiyonlarını olumsuz etkiler. Kalsiyum ATPaz enzimleri önemli sülfidril gruplarına sahiptir ve SOR tarafından inaktive edilebilir (48).

SİKLODEKSTRİNLER

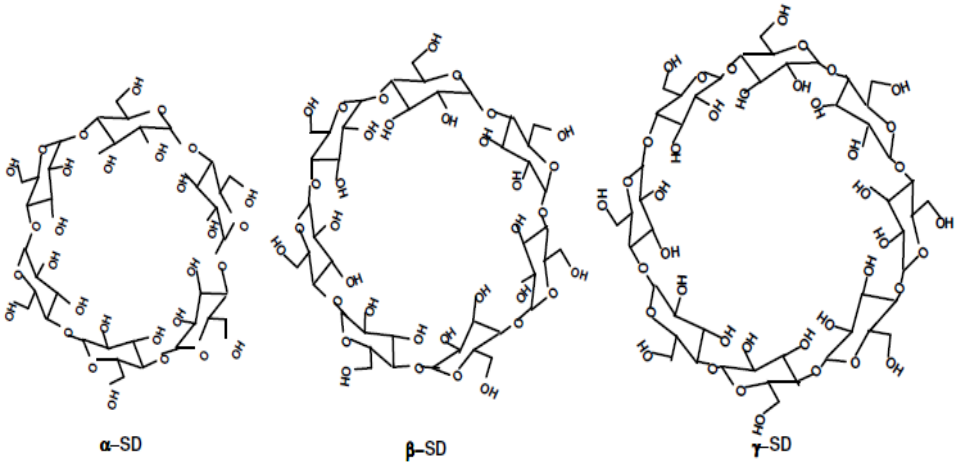
Supramoleküller, farklı özelliklere sahip olan iki veya daha fazla molekül, iyon veya koordinasyon bileşiklerinin molekül içi etkileşimler ile birleşmesi sonucu oluşan komplekslerdir (49). Bu etkileşimlerin çoğu konakçı ve konuk tipinde olmaktadır (50). Supramoleküler kimyada konakçı moleküller kriptandlar, taç eterleri, kalikserenler,

siklofanlar ve siklodekstrinler (SD) gibi kafes yapısında olan bileşiklerdir (49). Bu konakçı moleküller arasında en önemlisi SD'lerdir, çünkü bunlar nişastanın enzimatik yolla parçalanması ile oluşan biyolojik bileşiklerdir (51). Geometrik olarak 3 boyutlu konik silindir biçiminde olan SD'lerin kavite denen iç kısmı hidrofobik dış yüzeyi ise hidrofiliktir. Bu yapısal özelliklerinden dolayı çok çeşitli katı, sıvı ve gazlarla konakçı-konuk tipinde kristal inklüzyon kompleksi oluşturabilme yeteneğindedirler (52). SD'lere olan ilginin temel sebebi biyolojik bir ürün olmaları ve inklüzyon kompleksi oluşturabilmeleridir (51). İnklüzyonla konuk molekülün çözünürlük, ısı, ışık ve uçuculuk gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal özellikleri iyileştirilebilmektedir. Başta gıda ve eczacılık olmak üzere kozmetik, kimya, tarım ve tekstil gibi birçok endüstriyel alanda kullanılabilmektedirler (53).

SD'ler hakkındaki ilk yazılı belge Fransız bilim adamı Villier (1891)'e aittir (54). Villier nişastadan *Bacillus amylobacter* ile ilk SD'leri üretmiş ve bunlara selülozin adını vermiştir. 1903'te Shardinger bunların siklik yapılarını belirleyerek; bulduğu iki farklı SD'ye α ve β dekstrinleri ismini vermiştir (55). 1948'de SD'lerin inklüzyon kompleksi oluşturabilme yetenekleri belirlenmiş, 1970'lerde de endüstriyel olarak Japonya ve Macaristan'da üretilmeye başlanmıştır (52). Dünyadaki SD üretimi 1990 yılında 850 ton, 1998'de 6000 tondur ve giderek artmaktadır (52,55).

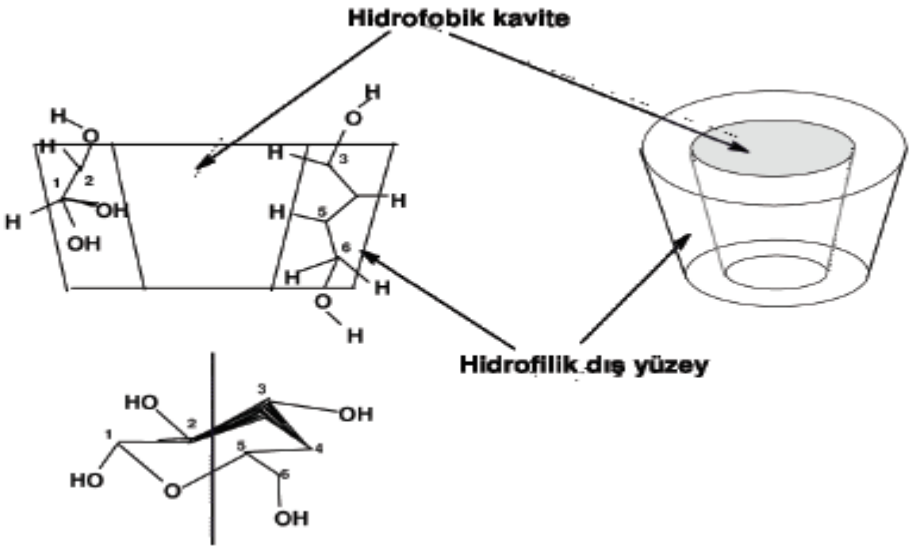
Siklodekstrinlerin yapısı ve özellikleri

Siklodekstrinler, nişastanın siklodekstrin glikoziltransferaz (SGTaz) enzimi ile parçalanması ile elde edilen α(1-4) glikozidik bağlı, indirgen olmayan, siklik maltooligosakkaritlerdir (53). 6-12 glikoz ünitesinden oluşan SD'lerin bulunduğu belirlenmiştir, ancak bunlardan sadece α, β ve γ-SD olarak isimlendirilen ve sırası ile 6, 7 ve 8 glikoz ünitelerinden oluşan SD'ler endüstriyel olarak üretilmekte ve kullanılmaktadır (56). 6 glikoz ünitesinden daha az glikoz içeren SD'lerin üretiminin sterik olarak mümkün olmadığı bildirilmiştir (56).



Şekil 2: α, β ve y- siklodekstrinlerin kimyasal yapısı (54)

Siklodekstrinlerin 3 boyutlu şekilleri konik silindir biçimindedir. Bu özelliğin yapılarındaki glikopiranoz ünitelerinin $^4C_1$ sandalye formunda olmasından kaynaklandığı belirlenmiştir (57). Sandalye formu ile bütün hidroksil grupları molekülün dış yüzeyinde toplanmıştır (56). Sekonder hidroksil grupları (C2 ve C3) halkanın geniş kenarında, primer hidroksil (C6) grupları ise diğer kenarda bulunmaktadır (58). Hidroksil gruplarının molekülün dış yüzeyinde bulunması SD'lerin suda çözünmesini (hidrofilik) sağlamaktadır (58). Kavitede ise molekülün apolar özellikte olmasını sağlayan C3 ve C5 hidrojen atomları ve glikozidik oksijen köprüleri bulunmaktadır (Şekil 3) (49).



Şekil 3: Siklodekstrinlerin 3 boyutlu yapıları. (59)

α, β ve γ-SD'lerin çeşitli özellikleri Tablo 1'de verilmiştir. β-SD'nin suda çözünürlüğü (% 1.85), α-SD (% 14.5) ve γ-SD'ye (% 23.2) göre oldukça düşüktür (50,59). SD molekülünde bir glikopiranoz ünitesinin C2 hidroksil gruplarının bitişiğindeki C3 hidroksil grupları ile hidrojen bağları oluşturabildiği ve bu hidrojen bağları ile molekülde sekonder bir hidrojen kemerinin oluştuğu ve bunun da β-SD'ye oldukça sağlam bir yapı kazandırdığı belirtilmiştir. Bu hidrojen bağlarının β-SD'nin ortamda bulunan su molekülleri ile hidrojen bağı oluşturabilme yeteneğini azalttığı ve böylece çözünürlüğünü düşürdüğü bildirilmiştir (54,55). β-SD'nin suda çözünürlüğü düşük olduğu için üretim sırasında kolayca çöktürülüp ortamdan ayrılmaktadır. Bu nedenle β-SD, en ucuz, en çok bulunan ve kullanılan SD'dir (52). α-SD'de ise hidrojen kemeri tamamlanmamış durumdadır, çünkü moleküldeki bir glikopiranoz ünitesi bükülmüş durumdadır. Buna bağlı olarak 6 yerine ancak 4 hidrojen bağı oluşabilmektedir. γ-SD ise oldukça esnek bir yapıya sahip olduğundan çözünürlüğü en yüksek olan SD'dir (50).

Özellik	α-SD*	β-SD*	γ-SD*
Glikoz Ünite Sayısı	6	7	8
Molekül Ağırlığı	972	1135	1297
25°C'de Suda Çözünürlük (%ağ/h)	14,5	1,85	23,2
Dış Çap (A)	14,6	15,4	17,5
Kavite Çapı (A)	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
Yüksekliği (A)	7,9	7,9	7,9
Kavite Hacmi (A^3)	174	262	427

*Siklodekstrin

Tablo 1: Siklodekstrinlerin özellikleri (59)

Modifiye siklodekstrinler

Siklodektrinlerin suda çözünürlükleri aynı glikoz ünitesine sahip olan doğrusal dekstrinlere göre oldukça düşüktür (57). Bu nedenle, suda çözünen SD türevleri elde edebilmek için SD'ler modifiye edilebilmektedir (55). SD'lerde her bir glikopiranoz

ünitesinde fonksiyonları ve reaktiviteleri birbirinden farklı olan 3 serbest hidroksil grubu bulunmaktadır. Örneğin, bir β-SD molekülünde 21 hidroksil grubu aminasyon, esterifikasyon ve eterifikasyon gibi yöntemlerle çeşitli fonksiyonel grupların bağlanması ile modifiye edilebilmektedir (51,55). Bir bazik çözeltide çözündürülmüş β-SD'nin propilen oksitle muamele edilmesiyle, 2-hidroksipropil β-SD'ler oluşmakta ve böylece çözünürlüğü % 1.85'ten % 60'a (ağ/h) çıkarılabilmektedir (55).

Siklodekstrinlerin modifikasyonları, genellikle fonksiyonel grupların moleküldeki hidroksil gruplarına rastgele yerleştirilmesi ile kısmi olarak yapılmaktadır. Hidroksil gruplarının tamamına fonksiyonel grupların yerleştirilmesiyle elde edilen modifiye SD'lerin çözünürlüklerinin kısmi olarak modifiye edilenlere göre daha düşük olduğu belirtilmiştir (55). SD'lerin kimyasal modifikasyonları ile çözünürlüklerinin arttırılmasının yanında ışık ve oksijene dayanıklılığı da arttırılmakta ve konuk molekülün kimyasal aktivitesinin kontrolüne yardımcı olmaktadır (53). Günümüzde, çeşitli modifikasyonlarla 1500 farklı SD türevi yapılmış ve literatürde tanımlanmıştır, bunların 100'den fazlası saf kimyasal olarak pazarlanmaktadır. Ancak, bunların toksikolojik değerlendirmeleri çok pahalı ve zaman alan süreçler olduğu için, sadece birkaç modifiye SD'nin endüstriyel uygulamalarına izin verilmektedir. Yeni modifiye edilmiş SD'ler aslında kullanılanlardan daha iyi özelliklerde olmadığından bunların kullanım alanlarının çok yavaş artacağı veya gelişeceği belirtilmiştir (55). Endüstriyel olarak kullanılan modifiye SD'ler: RAMEB (rastgele metillenmiş β-SD), HPBCD (hidroksipropil β-SD), HEBCD (hidroksietil β-SD), DIMEB (heptakis (2,6-dimetil) β-SD), TRIMED (heptakis (2,3,6 trimetil) β-SD), EPC-CD (epiklorhidrin ile çapraz bağlamış SD)'dir (53).

Siklodekstrinlerin inklüzyon kompleksi

İnklüzyon kompleksleri, bir konakçı molekülün konuk bir molekülü herhangi bir kovalent bağ oluşturmaksızın kavitesinde tutması ile oluşan bileşiklerdir (60). İnklüzyon kompleksi oluşturabilen organik maddeler (konuk) taç eterleri ve siklodekstrinlerdir (56).

Her üç SD'nin de kavite yükseklikleri aynı olduğu için, glikoz ünitesi sayısı sadece kavitenin çap ve hacmini belirlemektedir. Bu boyutlara göre α-SD'ler tipik olarak düşük moleküllü veya alifatik yan zincirli bileşiklerle, β- SD'ler aromatik ve heterosiklik bileşiklerle, γ- SD ise makrosiklik ve steroidler gibi daha büyük moleküllerle kompleks oluş-turabilmektedirler (61). SD'lerle inklüzyon kompleksleri oluşturulurken, konuk moleküller konakçı kavitesinde geçici olarak hapsedildiği veya kilitlendiği için, konuk moleküllerin

fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinde önemli değişiklikler oluşur (53). Bunun yanında moleküllerin ısı, ışık ve oksidasyonun yıkıcı etkilerine karşı koruyarak ürünlerin raf ömrünün uzatılması, istenmeyen koku ve tatların maskelenmesi gibi pek çok amaçla da kullanılabilmektedir (53).

Siklodekstrin Glikoziltransferaz (SGTaz) Enzimi

Siklodekstrin glikozil transferaz, nişastanın parçalanmasını katalize ederek SD'leri oluşturan hücre dışı bir enzimdir (62). Bu enzimler ayrıca, siklomaltodekstrin gliko-ziltransferaz veya siklomaltodekstrin glukanotransferaz olarak da isimlendirilmektedir (62GIDA 32).

SGTaz enzimleri, çoğunlukla, bakteriler tarafından üretilmektedir (63). *Bacillus*, *Klebsiella*, *Brevibacterium*, *Thermoanaerobacterium*, *Thermoanaerobacter* ve *Micrococcus* cinsine ait bakterilerin SGTaz ürettikleri saptanmıştır (63).Günümüzde, endüstriyel SGTaz üretiminde en çok kullanılan mikroorganizmalar aerobik ve alkalofilik *Bacillus* türleridir (63)

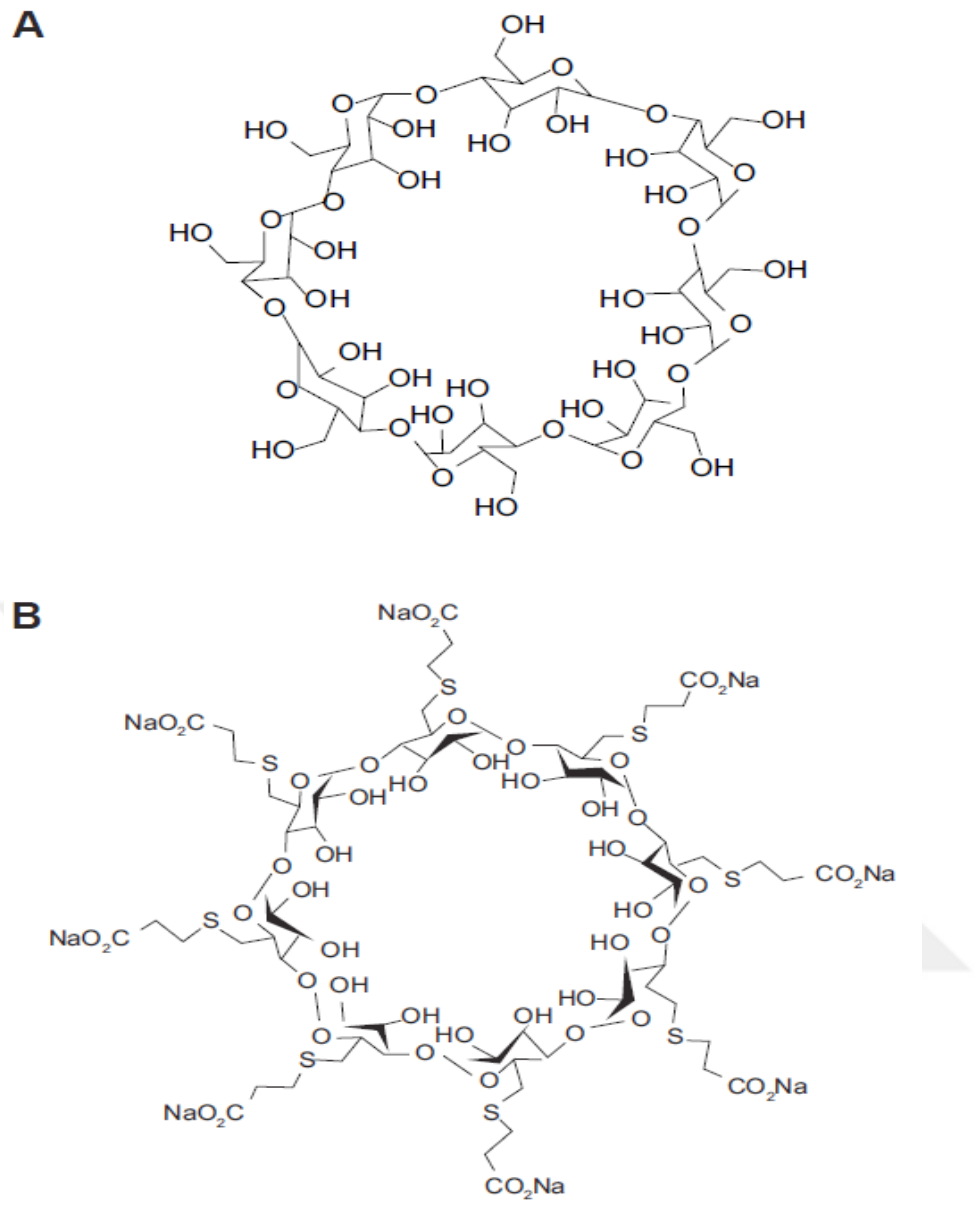
SUGAMMADEKS

Sugammadeks, modifiye gamma-siklodekstrin yapıda nöromüsküler geri döndürücü ajanların ilk üyesidir. 2009 yılında ülkemizde kullanıma girmiştir (64). Sugammadeks gamma-siklodekstrin ve sekiz glukoz molekülünden oluşan dairesel bir yapıdadır (şekil 4) (64). Sugammadeks genel anestezide sık kullanılan amino steroid yapıda nöromüsküler bloker olan rokuronyum ve vekuronyumu çevreleyecek şekilde dizayn edilmiştir (64). Sugammadeksin yan zinciri rokuronyumu içine hapsetmek için santral kaviteye almakta bu sırada zincir sonu negatif karboksil grupları rokuronyumun pozitif nitrojen atomları ile elektrostatik bağlanma yapmaktadır (64). Bu bağlanma sonucunda nöromüsküler bileşkedeki nikotinik reseptörlere bağlanan rokuronyum ve vekuronyum miktarı azalmaktadır. Nöromüsküler bileşkede meydana gelmiş olan blok geri döndürülmektedir. Oluşan sugammadeks ve rokuronyum kompleksi inaktive olup sugammadeksin farmokokinetik özellikleri ile vücuttan elimine edilmektedir (65,66).

İlaç Reaksiyonları

Toremifen, fusidik asit veya flukloksasilin kullanımı sugammadeksin etkisini değiştirebilir. Tromifen, rokuronyum ve vekuronyuma göre plazma konsantrasyonunun ve afinititesinin yüksek olmasından dolayı sugammmadekse daha çok bağlanma gösterir. Tromifen kullanan hastalarda aynı gün sugammadeks kullanılması gerektiğinde nöromüsküler blokajı geri çevirme süresi uzamaktadır (67). Postoperatif fusidik asit veya yüksek doz flukloksasilin (>500 mg) kullanımı sugammadeksin bağladığı rokuronyum ve vekuronyum yerini almaktadır. Bu yüzden bu ilaçlar sugammadeks kullanılan vakalarda postoperatif 6 saat içerisinde kullanılmamalıdır. Fusidik asit ve flukloksasilin kullanımından sonra 15 dakika içinde nöromüsküler blokerlerin tekrar etki ettiği gösterilmiştir, bu sebepten sugammadeks kullanımdan sonra bu ilaçlardan kaçınılmalıdır (68).

Progesteronlu oral kontraseptif (kombine veya tek progesteron) kullanan kadınlarda sugammadeks kullanımından sonra o günkü dozu atlanmış gibi davranılmalıdır. Sugammadeks 4 mg/kg dozunda kullanımı progesteron düzeyini % 34 azaltmaktadır ve progesteron etkinliğinin azalmasına yol açmaktadır. Sugammadeks yapılan laboratuvar testlerinde serum progesteron analizlerini ve koagülasyon parametrelerini etkilememekte olup çalışmalarda klinik olarak ilişkileri tam olarak değerlendirilmemiştir (68).



Şekil 4: Siklodekstrin: A) modifiye olmamış gamma-siklodekstrin. B) modifiye gamma-siklodekstrinler (sugammadeks) (65)

Farmakokinetik Özellikler

Sugammadeksin 1mg/kg'dan 16mg/kg'a kadar artan uygulama dozlarında cevapta doğrusal bir artış göstermektedir (68). İnsan plazma ve tam kan çalışmalarında (serbest form veya rokuronyum ile bağlı formlarda) plazma proteinlerine veya eritrositlere bağlanmamaktadır. Sugammadeksin metabolizmaya uğramadığı veya çok az metaboliti olduğu farz edilmektedir (68).

Sugammadeks değişime uğramadan renal olarak atılmaktadır. Sağlıklı erişkinlerde sugammadeksin yarılanma zamanı 1.8 saattir. Sugammadeksin uygulanan dozunun çoğunluğu (% 90) 24 saat içinde vücuttan atılmaktadır, atılan kısmın % 96'lık kısmı üriner yolla, özellikle metabolize olmayan şekilde, çok az bir kısmı ise dışkı ve hava yolu ile atılmaktadır. Normal renal fonksiyonları mevcut bireylerde sugammadeks klirensi 84-138 mL/dakikadır (69). Sugammadeks veya sugammadeksle beraber rokuronyum kompleksinin atılımı ciddi renal yetmezliği olan hastalarda (kretatinin klirensi (CLcr) < 30 mL/dak.) normal renal fonksiyonu mevcut hastalara göre (CLcr > 80 mL/dak.) önemli biçimde azalmaktadır ve azalan kreatinin klirensi yarılanma zamanı ve ortalama etki süresini uzatmaktadır. Bu durum hastalarda sugammadeksin etkinliğini değiştirmemektedir ve rekürarizasyon oluşmamaktadır. Ciddi renal yetmezliği olan özellikle diyaliz gereksinimi mevcut hastalarda sugammadeksin plazma konsantrasyonun da azalan değişkenlik göstermektedir. Bu yüzden ciddi renal yetmezliği olan hastalarda kullanımı yaygın değildir (68,69).

Sugammadeksin metabolizma ve atılımı hepatik bir yol izlememektedir. Bu sebepten hepatik yetmezliği olan hastalar değerlendirilmemiştir. Sugammadeks kullanımı yaygınlaşmasıyla hepatik yetmezlikli hastalarda dikkatli olunmalıdır (69).

Pediatrik hastalarda plazma konsantrasyonu erişkin hastalardaki gibi değişiklikler göstermektedir. Sugammadeksin iki yaş altında yeterli veri bulunmadığından şu anki kullanımı kısıtlıdır (69).

Sugammadeksin gebe kadınlarda kullanıma dair yeterli veri bulunmamaktadır. Sugammadeksin anne sütüne geçişi tam olarak bilinmemektedir, ama siklodekstrinlerin absorbsiyonu düşüktür bu yüzden sugammadeksin tek dozluk uygulaması emziren anneler için çocuklarda herhangi bir yan etki oluşturmamaktadır (69).

Doz, Uygulama ve Terapötik etkisi

Sugammadeks tek doz şeklinde intravenöz olarak on saniye içinde uygulanmalıdır. Eğer sugammadeks kullanımı sonrası rokuronyum ve vekuronyumun tekrarlanan uygulamaları gerekli ise bu uygulamalar 24 saat sonra yapılmalıdır, fakat 24 saat öncesinde kas gevşetici uygulaması gerekiyorsa steroid yapıda olmayan (atrakuryum cis-atrakuryum) kas gevşetici ajanlar kullanılmalıdır (67,69).

Faz 2 ve 3 çalışmalar sugammadeksin etkin dozu üzerine odaklanılmıştır. Eğer train of four (TOF) en az iki kasılma veriyorsa 2 mg/kg, posttetanik sayım (PTC) 1-2 ye ulaşıyorsa 4 mg/kg, PTC 0 ise 16 mg/kg dozda kullanılması önerilmektedir (70).

Renal fonksiyon kaybı veya ciddi renal yetmezliği bulunan hastalarda rokuronyumun oluşturduğu nöromüsküler bloğun geri çevrilmesinde sugammadeksin etkinliğinde herhangi bir değişme olmamaktadır fakat ciddi renal yetmezliği olan hastalarda (kreatinin klirensi (CLcr)<30 mL/dak.) kullanımı yaygın değildir (68,69).

Tolerasyon

Ağızda metalik veya acı tat sağlıklı gönüllülerde sugammadeksin 16 mg/kg altındaki uygulamaları sonrası çok fazla görülmeyen (% 0.07- 1) bir yan etki olarak değerlendirilmektedir, fakat yüksek doz (32- 96 mg/kg) uygulamalardan sonra bu oran artmaktadır (% 15.4- 66.7) (71). Sağlıklı gönüllülerde yapılan çalışmalarda sugammadeksin 16, 20, 32, 64 ve 96 mg/kg uygulamaları sonrası doz bağımlı, herhangi ciddi yan etkiye rastlanmamıştır (70).

MATERYAL VE METOD

Çalışmamız Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun onamı alındıktan sonra (Etik No: 15/2016, Etik alınma tarihi: 23/03/2016, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı: Prof. Dr. Osman Yılmaz) DEÜTF Hayvan Deneyleri Laboratuvarı'nda yapıldı. Çalışmaya Wistar cinsi, ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen, 28 adet erkek rat alındı. Standart laboratuvar koşullarında (12 saat gündüz- 12 saat gece olacak şekilde ışıklandırma, 20-22 °C oda ısısı, % 50-60 nem) izlendi.

Denekler 4 gruba ayrıldı. Sham grubu hariç diğer 3 gruba alt ekstremite iskemisi için deneklerin sağ arka bacak kasık bölgesinden elastik bandaj (1cm eninde ve 30cm boyunda) ile çepeçevre basınç uygulandı (5) ve deneklerin alt ekstremite kan akımının kesilmesi lazer Doppler ile birinci, ikinci ve üçüncü saatin sonunda femoral arter değerlendirilerek karar verildi.

Deney Grupları:

Sham Grubu (Grup Sham, n=7): Çalışma boyunca anestezi uygulaması dışında hiçbir işlem gerçekleştirilmedi. Sağ arka ekstremiteye herhangi bir girişimsel müdahale yapılmadı.

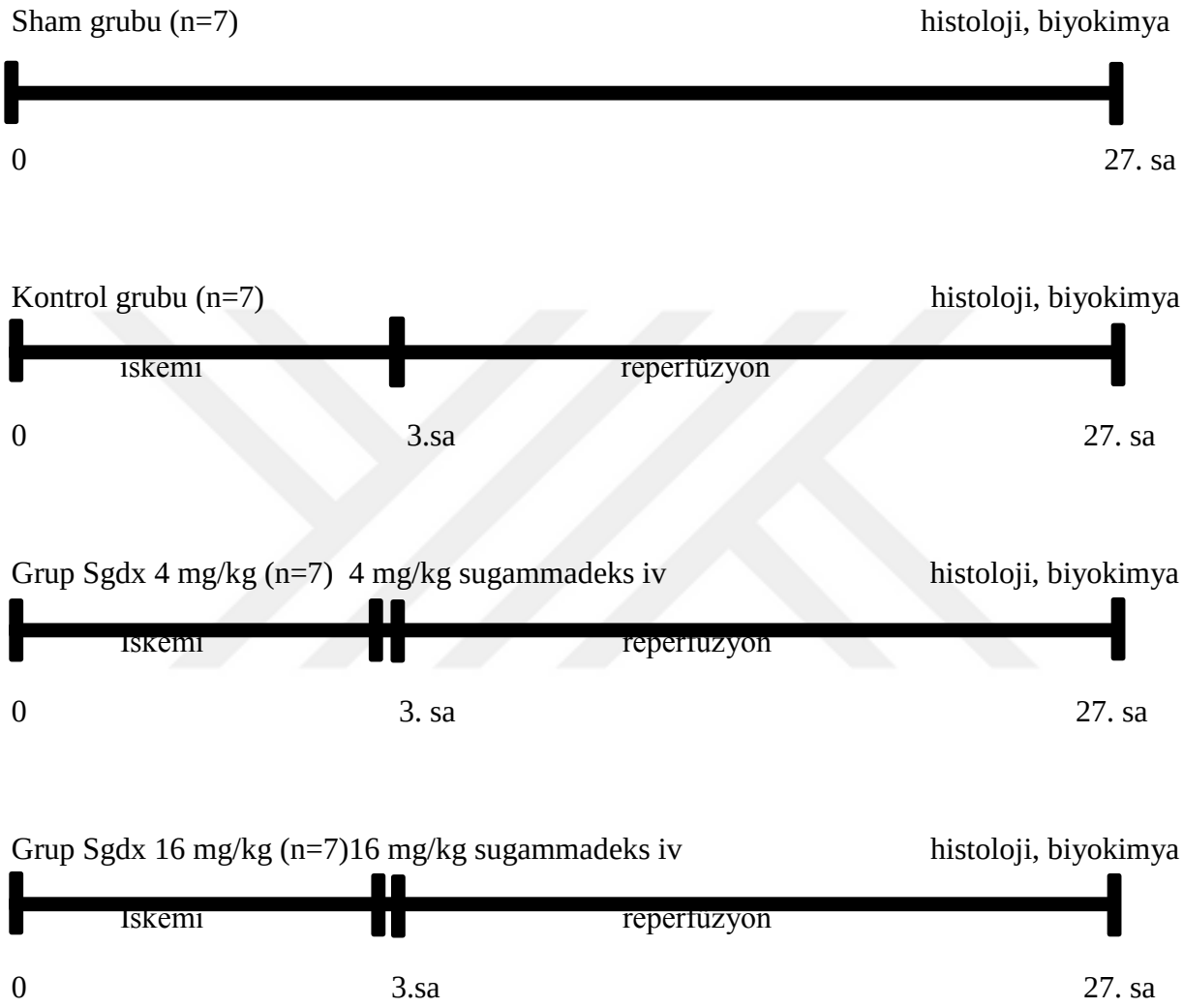
Grup C (Grup Kontrol, n= 7): Anestezi sonrası sağ arka ekstremiteye kalça eklemi hizasından turnike bağlandı. 3 saat iskemi 24 saat reperfüzyon uygulandı ve herhangi bir tedavi verilmedi.

Grup Sgdx4 (Grup S4, n= 7): Anestezi sonrası sağ arka ekstremiteye kalça eklemi hizasından turnike bağlandı. 3 saat iskemi uygulandı. Turnike açılmadan hemen önce 4 mg/kg sugammadeks (Bridion 200 mg/2 ml iv flk, Merck Sharp & Dohme) intravenöz olarak kuyruk veninden, toplam volüm 1 ml olacak şekilde verildi ve tedavi edilen grup olmak üzere ayrıldı. 24 saat reperfüzyon uygulandı.

Grup Sgdx16 (Grup S16, n= 7): Anestezi sonrası sağ arka ekstremiteye kalça eklemi hizasından turnike bağlandı. 3 saat iskemi uygulandı. Turnike açılmadan hemen önce 16 mg/kg sugammadeks (Bridion 200 mg/2 ml iv flk, Merck Sharp & Dohme) intravenöz olarak kuyruk veninden, toplam volüm 1 ml olacak şekilde verildi ve tedavi edilen grup olmak üzere ayrıldı. 24 saat reperfüzyon uygulandı.

Sugammadeks dozları ratlarda ve sağlıklı insanlarda yapılan daha önceki çalışmalardaki dozlar örnek alınarak belirlendi (70, 71)

Deney Protokol Şeması



Şekil 5: Deneysel İskemi Reperfüzyon Modeli

Deneklere anestezi ip (intraperitoneal) 50 mg/kg ketamin (Ketalar flk., *Pfizer Pharma GMBH, Germany*) ve 5-10 mg/kg arası ksilazin hidroklorid (Alfazyne % 2, *Alfasan*

International, Holland) ile sağlandı. Sağ arka ekstremiteye turnike uygulanarak iskemi sağlandı (5)(Resim 1) ayrıca iskemi süresi boyunca her 45 dakikada bir dozlar tekrarlandı.

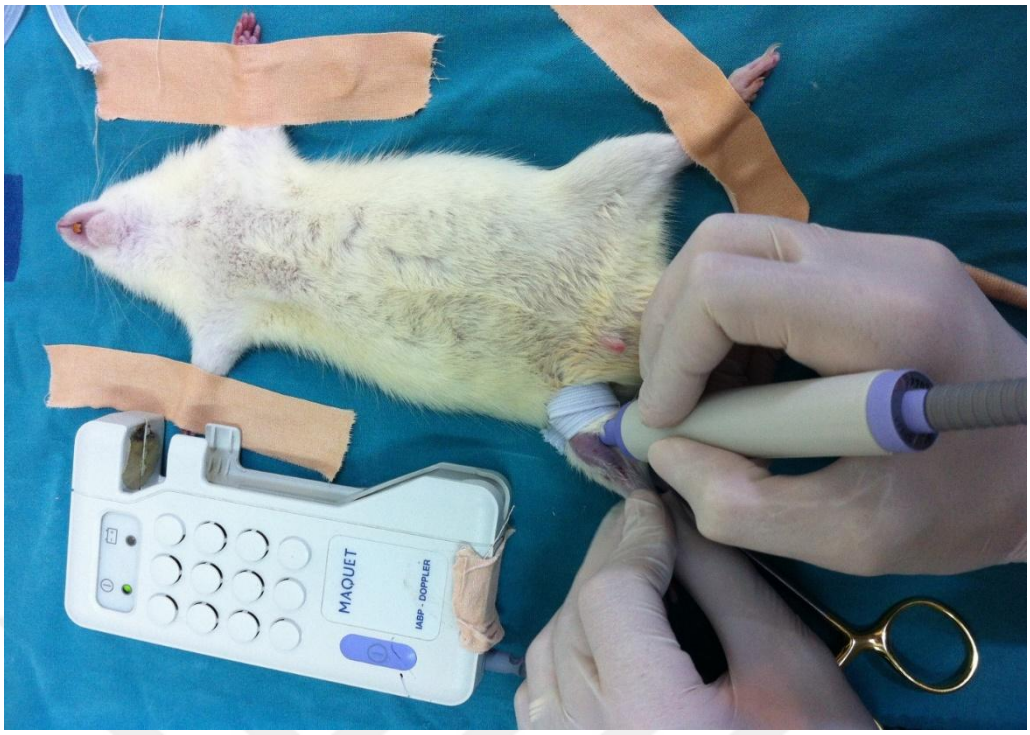


Resim 1: Ratın sağ alt ekstremitesine elastik bandaj uygulanması

Kuyruk veninden damar yolu açılarak dehidratasyonu önlemek için 5-10 mL/kg/saat hızında serum fizyolojik verildi.

Kan akımının kesilmesi lazer Doppler ile birinci, ikinci ve üçüncü saatin sonunda femoral arter değerlendirilerek karar verildi (Resim 2).

3 saat iskemi süresinin (4, 5) ardından turnike açılmadan hemen önce sugammadeks 4 mg/kg ve 16 mg/kg deneklere intravenöz kuyruk veninden verildi.



Resim 2: Ratta alt ekstremitede kan akımı kesilmesinin Doppler ile gösterilmesi

Sugammadeks dozları intravenöz verildikten sonra damar yolu çıkarıldı.

Reperfüzyon süresi boyunca deneklerin standart rat yemi ve su ile beslenmeleri cerrahi işlemden 2 saat öncesine kadar izin verildi. 24 saat reperfüzyon süresi sonunda deneklere anestezi ip 50 mg/kg ketamin (Ketalar flk., *Pfizer Pharma GMBH, Germany*) ve 5-10 mg/kg arası ksilazin hidroklorid (Alfazyne % 2, *Alfasan International, Holland*) ile sağlandı.

Histopatolojik inceleme için sağ bacak diseke edilerek gastrokinemius kası alındı. Biyokimyasal testler için kardiyak ponksiyon ile tüm kanları alındı, aynı zamanda bu yöntemle çalışma sonlandırılıp sıçanların eksanguinasyon ile sakrifiye edilmesi sağlandı.

BİYOKİMYASAL İNCELEME

Biyokimyasal inceleme için kalpten alınan kan örneklerinden serum CK (kreatin kinaz) , LDH (laktat dehidrogenaz) ve kan gazları (pH, pO2, pCO2 ve HCO3) değerlendirildi. Bu parametreler Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi merkez laboratuvarından hizmet alınarak çalışıldı. Serum ve doku örneklerinden MDA (malondialdehit), serum örneğinden SOD (süperoksitdismutaz) analizleri spektrofotometrik yöntemle manuel olarak çalışıldı. Serumlar biyokimya tüplerine alındı ve analiz edilinceye kadar -80ºC'de saklandı.

Analiz öncesi, kas dokuları, hassas terazide tartılarak mikro santrifüj tüplerine kondu, bu işlem sırasında numuneler buz üzerinde tutuldu; üzerine 800 mL PBS eklendi. Dokular, mikro santrifüj tüpleri içinde Tissue lyser cihazında 180 sn 25/sn frekansta homojenize edildi. Üstte kalan süpernatan soğuk ortamda başka bir mikro santrifüj tüpüne aktarıldı. Homojenat 4 °C'de 13000 g'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üstte kalan süperernatan buz üzerine kondu; bir parça yedekleme açısından saklandı, diğer parça ise PBS ile 1/8 oranında dilüe edilerek MDA analizine hazır bırakıldı.

Doku ve serum MDA düzeyleri BioVision ticari kiti ile (Kat no: #K739-100, USA)ölçüldü. Yöntem, numunedeki MDA ürünlerinin tiyobarbütirik asid ile MDA-TBA kompleksi oluşturması ve bunun 532 nm'de kolorimetrik olarak ölçülmesine dayanır. Serum sonucu mikromol/L; doku sonucu ise mikromol/gram protein ve mikromol/gram doku olarak verildi.

Doku ve serum SOD aktivitesi BioVision ticari kiti ile (Kat no: #K335, USA) ölçüldü. Yöntem, numunedeki SOD'un süperoksid anyon oluşumunu inhibe etmesi tekniğine dayanır; SOD aktivitesi inhibisyon oranı ile doğru orantılı olup; bu 450 nm'de kolorimetrik olarak ölçüldü. Serum sonucu U/mL olarak verilirken; doku sonucu U/mg doku ve U/mg protein olarak verildi.

HİSTOPATOLOJİK YÖNTEM

Çalışma gruplarına ait gastroknemius kas dokuları ışık mikroskopik inceleme için %10'luk formaldehit solüsyonu içinde 48 saat tespit edildi, tespit işleminden sonra akan çeşme suyunda 24 saat boyunca yıkandı. Yükselen dereceli alkol serilerinden (%80, %96, %100) geçirilerek dehidrate edildi. Ksilende şeffaflaştırıldı ve parafin bloklara gömüldü (72). Elde edilen parafin bloklardan tam otomatik mikrotom (Leica RM 2255, Tokyo, Japan) ile 5 µm kalınlığında kesitler ışık mikroskopik yöntemler için lam üzerine alındı. Elde edilen kesitler genel histolojik yapıyı gözlemlemek ve değerlendirmek amacıyla Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama yöntemi (73) ile ayrıca kas ve bağ dokularının daha iyi ayırt edilebilmesi ve incelenebilmesi için Masson'un Trikrom tekniğiyle (74) boyandı.

Elde edilen preparatlar bu konuda deneyimli ve çalışma gruplarından habersiz bir histolog tarafından değerlendirildi. Gruplara ait kas dokularının preparatlarının değerlendirilmesinde Olympus BX51 (Olympus, Tokyo, Japan) mikroskop kullanıldı. Elde edilen bulgular ışık mikroskopa adapte kamera ataçmanı (Olympus DP71;Olympus, Tokyo, Japan) ile farklı büyütmelerde fotoğraflandı.

Çizgili kas dokusunun değerlendirilmesinde, kas liflerinde disorganizasyon, dejenerasyon, inflamatuar hücre infiltrasyonu, vasküler konjesyon ve ödem açısından yarıkantitatif olarak 0-3 arasında skorlama yapıldı. Buna göre 0: Normal, 1: Hafif, 2: orta, 3:Şiddetli olarak yarıkantitatif değerlendirme yapıldı (72).

İSTATİKSEL ANALİZ

İstatistik analiz için *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) 15.0 programı kullanıldı. Sıklık belirten veriler sayı (n) ve yüzde (%), devamlı değerler alan veriler ortalama ± SD, median (minimum-maksimum) olarak gösterildi. Gruplarda verilerin analizinde, sıklık belirten veriler için ki-kare ve fisher kesinlik testi, devamlı değerler alan veriler için grup sayısına göre Mann-Whitney U ve Kruskal-Wallis testi kullanıldı. p değerinin 0.05 altında olması istatistiksel anlamlılık olarak kabul edildi.

BULGULAR

Bu çalışma 7'şer rattan oluşan 4 gruptaki toplam 28 ratta gerçekleştirildi. Deneklerin tümü, protokolü tamamladı.

Histopatolojik inceleme sonuçları:

Gruplar histopatolojik inceleme sonuçlarına göre değerlendirildiğinde; sham grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında kas dejenerasyonu, inflamatuar hücre, vasküler konjesyon ve ödem oluşumu bakımından istatiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$).

Sugammadeks 4 mg/kg kullanılan grupta, kas dejenerasyonu, vasküler konjesyon ve ödem açısından hem sham hem de kontrol grubu ile anlamlı bir farklılık göstermemekteydi ($p>0.05$). İnflamatuar hücre ve toplam skor açısından sham grubuyla anlamlı olarak farklı bulundu ($p<0.05$).

Sugammadeks 16 mg/kg verilen grupla 4 mg/kg verilen grup arasında inflamatuar hücre gelişimi ve toplam skor bakımından istatiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$). Sugammadeks 16 mg/kg verilen grupla sham grubu arasında kas dejenerasyonu, inflamatuvar hücre, vasküler konjesyon, ödem gelişimi açısından anlamlı fark saptandı ($p<0.05$).

Tablo 2: Gruplar arası histolojik değerlendirme

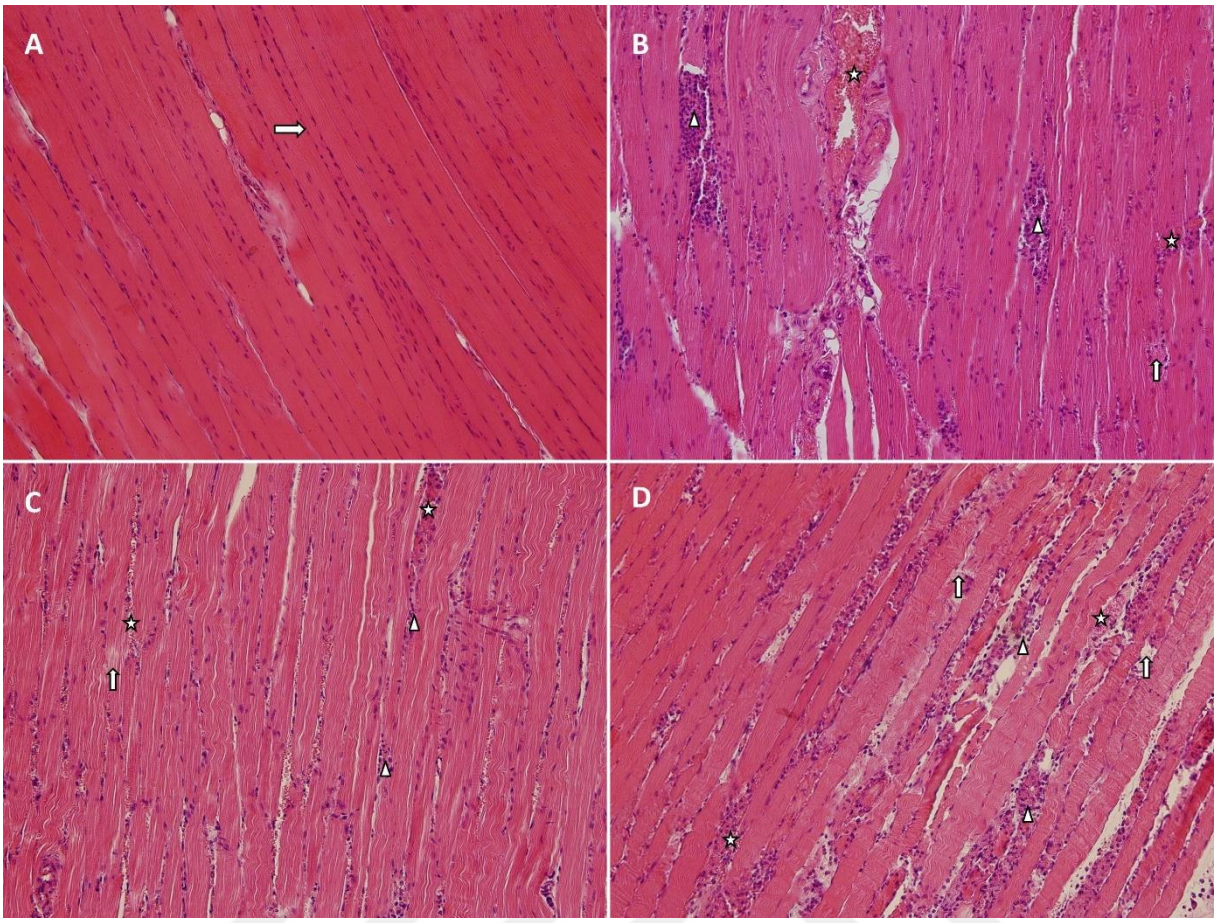
Gruplar	Kas Dejenerasyonu	İnflamatuvar Hücre	Vasküler Konjesyon	Ödem	Toplam Skor
Grup Sham	0,85±0,37	0,57±0,53	0,85±0,37	0,42±0,53	2,71±1,11
Grup Kontrol	2,28±0,48 *	2,42±0,53 *	2,00±0,81 *	1,85±0,37 *	8,57±1,81 *
Grup Sgdx 4 mg/kg	1,85±0,89	2,14±0,37 ‡	1,57±0,53	1,14±0,69	6,71±1,97 ‡
Grup Sgdx 16 mg/kg	2,57±0,53 †	2,85±0,37 †¥	2,28±0,75 †	1,57±0,53 †	9,28±1,79 †¥

*: $p<0.05$; Grup Sham ile Grup Kontrol karşılaştırıldığında; Mann Whitney U testi

†: $p<0.05$; Grup Sham ile Grup Sgdx 16 mg/kg karşılaştırıldığında; Mann Whitney U testi

‡: $p<0.05$; Grup Sham ile Grup Sgdx 4 mg/kg karşılaştırıldığında; Mann Whitney U testi

¥: $p<0.05$; Grup Sgdx 4 mg/kg ile Grup Sgdx 16 mg/kg karşılaştırıldığında; Mann Whitney U testi



Resim 3: Çizgili kas dokusuna ait fotomikrograf (H&E X 200). (A: Sham Grubu, B: Kontrol Grubu, C: Sgdx 4 mg/kg Grubu, D: Sgdx 16 mg/kg Grubu). Normal çizgili kas hücresi (→), dejenere çizgili kas hücresi (↑), inflamatuar hücre infiltrasyonu (Δ), vasküler konjesyon (yıldız).

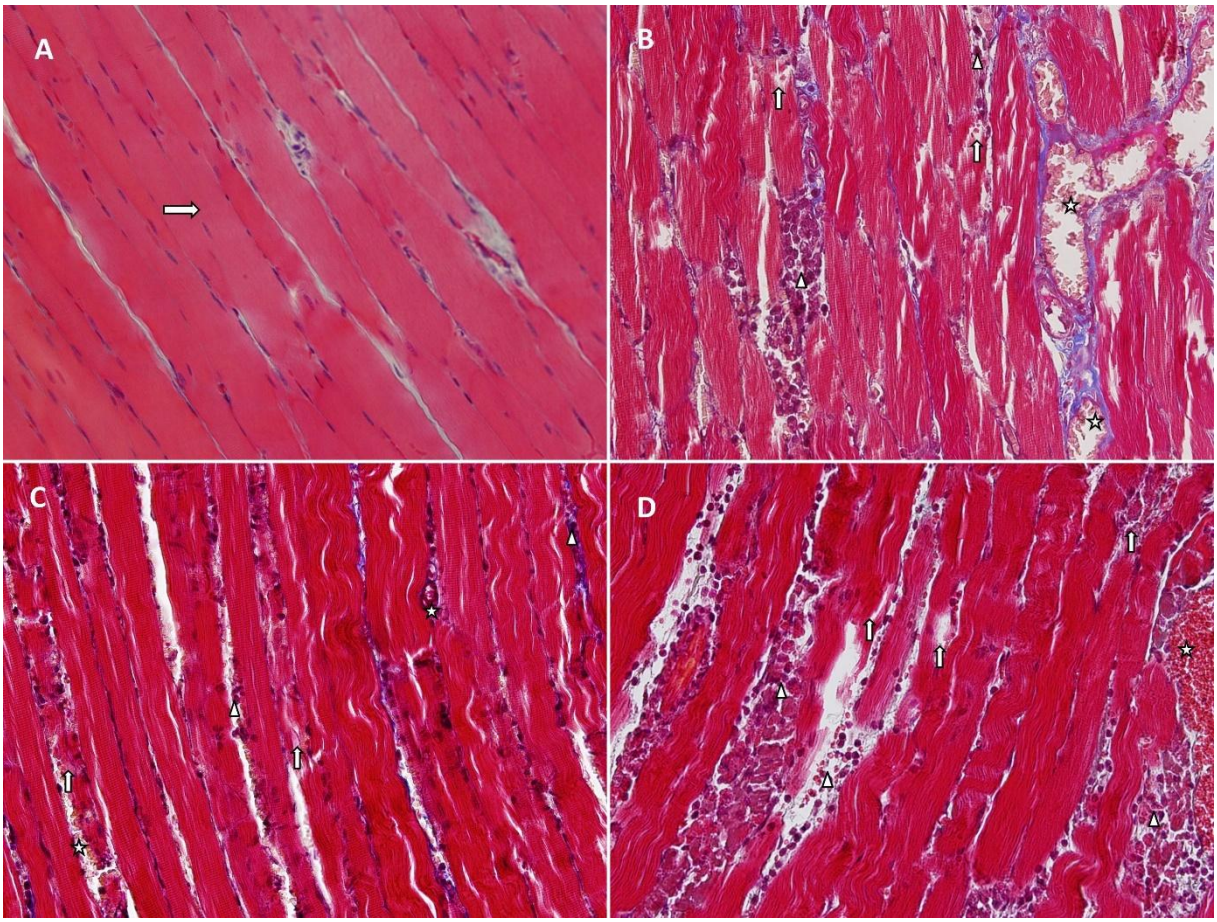
Çizgili kas dokusunun değerlendirilmesinde, Sham grubunda normal çizgili kas yapısı izlendi. Kas lifleri düzgün dizilimli idi. Kas liflerinde enine çizgilenmeler normal morfolojide idi (Resim 3 A).

Kontrol grubuna ait kas dokularının değerlendirmesinde, normal çizgili kas lifleri yanında kas liflerinde yaygın disorganizasyon ve dejenerasyon izlendi. Kas lifleri arasında açılmalar, yaygın olarak inflamatuar hücre infiltrasyonu ve vasküler konjesyon mevcut idi (Resim 3 B).

Sgdx 4 mg/kg grubuna ait kas dokularının değerlendirmesinde, kas lifleri arasında açılmalar ve kas liflerinde yer yer dejenerasyon izlendi. Kas lifleri arasında vasküler konjesyon ve yaygın inflamatuar hücre infiltrasyonu izlendi (Resim 3 C).

Sgdx 16 mg/kg grubuna ait kas dokularının değerlendirmesinde, yaygın olarak kas liflerinde disorganizasyon, dejenerasyon ve kas lifleri arasında açılmalar vardı. Kas lifleri arasında vasküler konjesyon ve yaygın inflamatuar hücre infiltrasyonu izlendi (Resim 3 D).

Masson'un trikrom tekniği ile yapılan boyamada bulgular belirgin olarak izlendi (Resim 4 A,B,C,D).



Resim 4: Çizgili kas dokusuna ait fotomikrograf (Masson Trikrom X 200). (A: Sham Grubu, B: Kontrol Grubu, C: Sgdx 4 mg/kg Grubu, D: Sgdx 16 mg/kg Grubu). Normal çizgili kas hücresi (→), dejenere çizgili kas hücresi (↑), inflamatuar hücre infiltrasyonu (Δ), vasküler konjesyon (yıldız).

Biyokimyasal inceleme sonuçları:

Sugammadeks 16 mg/kg verilen grupla sugammadeks 4 mg/kg verilen grup arasında serumda ölçülen SOD bakımından istatiksel anlamlı fark saptandı ($p<0.05$).

Diğer gruplar arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$)

Tablo 3: Grupların doku ve serum SOD değerleri

Gruplar	SOD U/mg protein	SOD Kan (U/ml)	SOD U/mg doku
Grup Sham	8,23±1,85	12,05±0,39	0,74±0,11
Grup Kontrol	9,76±2,48	13,91±5,10	0,71±0,19
Grup Sgdx 4 mg/kg	11,32±4,07	11,73±0,41	0,80±0,25
Grup Sgdx 16 mg/kg	13,16±5,50	12,42±0,42 ¥	0,87±0,37

¥: $p<0.05$; Grup Sgdx 4 mg/kg ile Grup Sgdx 16 mg/kg karşılaştırıldığında; Mann Whitney U testi

Serum ve doku örneklerinden elde edilen MDA değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

Tablo 4: Grupların doku ve serum MDA değerleri

Gruplar	MDA Mikrokol/gr protein	MDA kan Mikromol/L	MDA Mikromol/gr doku
Grup Sham	4,24±1,23	5,98±2,19	0,38±0,09
Grup Kontrol	4,67±1,12	7,49±3,51	0,34±0,08
Grup Sgdx 4 mg/kg	4,79±1,55	10,60±11,89	0,35±0,13
Grup Sgdx 16 mg/kg	6,17±2,59	6,48±1,60	0,41±0,16

Sham ve kontrol grubu arasında CK ve LDH artışı açısından istatiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$).

Kontrol grubu ile sugammadeks 4 mg/kg verilen tedavi grubu arasında CK düşüşü açısından istatiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$).

Kontrol grubu ile sugammadeks 16 mg/kg verilen tedavi grubu arasında CK ve LDH düşüşü açısından istatiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$).

Tablo 5: Grupların CK ve LDH değerleri

Gruplar	CK (IU/L)	LDH (IU/L)
Grup Sham	530,71±118,44	746,85±311,90
Grup Kontrol	1722,85±494,94 *	1219,00±416,65 *
Grup Sgdx 4 mg/kg	739,71±233,70 £	871,28±319,18
Grup Sgdx 16 mg/kg	1005,42±395,74 †€	653,57±282,70 €

*: $p<0.05$; Grup Sham ile Grup Kontrol karşılaştırıldığında; Mann Whitney U testi

†: $p<0.05$; Grup Sham ile Grup Sgdx 16 mg/kg karşılaştırıldığında; Mann Whitney U testi

£: $p<0.05$; Grup Kontrol ile Grup Sgdx 4 mg/kg karşılaştırıldığında; Mann Whitney U testi

€: $p<0.05$; Grup Kontrol ile Grup Sgdx 16 mg/kg karşılaştırıldığında; Mann Whitney U testi

Sham grubu ile kontrol grubu arasında pH, pO_2, pCO_2 değerleri açısından istatiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Sham grubu ile sugammadeks 4 mg/kg tedavi verilen grup arasında pH, pO_2, pCO_2 değerleri açısından istatiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$).

Sham grubu ile sugammadeks 16 mg/kg tedavi verilen grup arasında pH, pO_2, pCO_2 değerleri açısından istatiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$).

Kontrol grubu ile sugammadeks 4 mg/kg tedavi verilen grup arasında pH, pCO_2 değerleri açısından istatiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Kontrol grubu ile sugammadeks 16 mg/kg tedavi verilen grup arasında pO_2 değerleri açısından istatiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$).

Sugammadeks 4 mg/kg grubu ile sugammadeks 16 mg/kg tedavi verilen grup arasında pO_2, pCO_2 değerleri açısından istatiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$).

Tablo 6: Grupların kan gazı değerleri

Gruplar	pH	pO_2 (mmHg)	pCO_2 (mmHg)	HCO_3 (mmol/L)
Grup Sham	7,34±0,03	102,38±25,96	42,72±9,01	22,51±1,84
Grup Kontrol	7,16±0,03 *	45,10±14,66 *	78,35±10,89 *	21,05±1,55
Grup Sgdx 4 mg/kg	7,25±0,02 ‡£	40,77±9,99 ‡	64,02±6,97 ‡£	22,52±1,75
Grup Sgdx 16 mg/kg	7,19±0,04 †	26,77±7,68 †€¥	77,91±10,70 †¥	22,54±1,64

*: $p<0.05$; Grup Sham ile Grup Kontrol karşılaştırıldığında; Mann Whitney U testi

†: $p<0.05$; Grup Sham ile Grup Sgdx 16 mg/kg karşılaştırıldığında; Mann Whitney U testi

‡: $p<0.05$; Grup Sham ile Grup Sgdx 4 mg/kg karşılaştırıldığında; Mann Whitney U testi

£: $p<0.05$; Grup Kontrol ile Grup Sgdx 4 mg/kg karşılaştırıldığında; Mann Whitney U testi

€: $p<0.05$; Grup Kontrol ile Grup Sgdx 16 mg/kg karşılaştırıldığında; Mann Whitney U testi

¥: $p<0.05$; Grup Sgdx 4 mg/kg ile Grup Sgdx 16 mg/kg karşılaştırıldığında; Mann Whitney U test

TARTIŞMA

Ratlarda alt ekstremiteye turnike uygulanarak oluşturulan İ/R modelinde, intravenöz (iv) yolla 4 mg/kg ve 16 mg/kg dozlarında verilen sugammadeksin iskelet kası İ/R hasarında etkisini histopatolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirmeyi amaçladığımız çalışmamızda sugammadeks 4 mg/kg kullanılan grupta, inflamatuvar hücre oluşumu, pO_2, pCO_2 açısından I/R hasarının engellendiği ancak 16 mg/kg dozunda ise etkin olmadığı belirlenmiştir.

Ameliyatlarda turnike kullanımı, bir İ/R modelidir. Turnikeye bağlı İ/R hasarında vasküler yatakta ve kas dokusunda fonksiyonel ve metabolik değişiklikler ortaya çıkar. Kapiller hasara bağlı fonksiyon bozukluğuna bağlı vasküler geçirgenlik artar, proteinler damar dışına kaçar. Bu olayların devamında kas dokusunda ödem oluşumu gözlenir. Turnike kullanımından sonra ortaya çıkan lokal ve sistemik etkilerin derecesi ile inflasyon süresi arasında paralellik vardır. Morfolojik ve histokimyasal açıdan hasarın derecesi, turnike süresine bağlı olarak değişir (75,76).

Wang L ve ark. (77) kolşisinin rat iskelet kası İ/R hasarında 3 saat iskemi 2 saat reperfüzyonun ardından histolojik değerlendirmede kolşisin verilen grupta nötrofil infiltrasyonunun ve ödemin azaldığını göstermişlerdir. Takhtfooladi HA ve ark. (78) tramadol ile yaptıkları rat iskelet kası İ/R modelinde femoral artere 2 saat klemp konulmasının ardından 24 saat reperfüzyondan sonra 20 mg/kg tramadol verilen grupta vasküler endotelyal geçirgenlik, ödem oluşumu ve doku nekrozunun azaldığını bulmuşlardır. Bizde çalışmamızda benzer olarak inflamatuvar hücre oluşumunu; 3 saat iskemi 24 saat reperfüzyon süresi sonunda reperfüzyondan hemen önce verilen sugammadeks 4 mg/kg'ın 16 mg/kg tedavi verilen gruba göre daha az bulduk.

Kas hücresinde İ/R hasarlanması sonucu önce geri dönüşümlü, iskeminin ilerleyen dönemlerinde ise hücre ölümünün gözlendiği geri dönüşümsüz hasarlanma ortaya çıkar. Hücrede geri dönüşümlü zedelenmede akut hücresel şişme, nükleer kromatin kümeleşmesi, mikrovillusların kaybı, endoplazmik retikulum (ER) ve mitokondri şişmesi (dilatasyon) gibi değişiklikler ortaya çıkar. Geri dönüşümsüz zedelenmeye, mitokondrilerin daha şiddetli şişmesi ve mitokondri matriksinde şekilsiz, kalsiyumdan zengin yoğunlukların birikimi eşlik eder. Lizozomal membranların zedelenmesi, enzimlerin sitoplâzma içine sızmasına yol açar. ER'de lizis, fosfolipitlerin kaybı, hücre iskelet değişiklikleri, SOR oluşumu, lipitlerin yıkımı, protein sindirimi, kreatin kinaz (CK) ve LDH gibi enzimlerin ortaya çıkışı gözlenir. Çekirdekte ise

kromatin bazofilisinde azalma (karyolizis), nükleer büzülme (piknoz) ve piknotik çekirdeğin parçalanması (karyorheksiz) gözlenir. İ/R'nun ilerleyen döneminde hücre ölümü "nekroz" ortaya çıkar (8,79,80). Kas dokusu, diğer dokulara göre (örneğin kalp ve beyin dokusu) iskemiye daha dirençlidir. Çünkü 5–7 saat süre ile metabolik kapasitesini kullanabilir. Kas dokusunda belirgin morfolojik değişimlerin 2 saatlik iskemi süresinin sonunda başladığı görülmüştür (79).

İskemik hasarlanma ile iskeminin süresi arasında önemli bir bağlantı vardır. Petrasek ve ark. (81), alt ekstremite İ/R çalışmasında ölçüm yaparak iskeminin 4. saatinde kas dokusundaki nekroz oranını %21, 5. saatte %61 ve 5. saatten sonra ise %92 olarak tespit etmişlerdir. Skjeldal ve ark (82), iskeminin 4. saatinde nekrozu %46 saptarken, 4,5 saat sonra % 70 olarak gözlemiştir. Bu iki çalışma bize iskemi süresi ile nekroz oranı arasında doğru orantı olduğuna işaret etmektedir.

Blaisdell F ve ark. (75), 3 saatlik alt ekstremite iskemi döneminin ardından kas dokusunda geri dönüşümsüz histolojik hasarlanmanın başladığını ve yaklaşık 6. saatte tamamlandığını göstermişlerdir. Sirsjö ve ark. (83), 3 saatlik iskemi döneminin ardından lazer doppler ile kas kan akımının belirgin olarak azaldığını saptamışlardır. Duru ve ark (5), ratlarda 3 saatlik iskemi süresi sonunda kas dokusunda yaygın nötrofil birikimi oluştuğunu belirlemişlerdir.

Bu bilgiler ışığında çalışmamızda iskemi süresi olarak geri dönüşümsüz hasarın başladığı 3 saat seçilmiştir. 3 saat iskemi süresinin sonunda sham grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında kas dejenerasyonu, inflamatuvar hücre, vasküler konjesyon ve ödem oluşumu bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.

Kas dokusunda İ/R hasarının derecesinin, uygulanan reperfüzyon süresi ile paralellik gösterdiği kanıtlanmıştır (79). Edna M ve ark. (84), İ/R hasarının alt ekstremitede kas dokusunda morfolojik ve histokimyasal değişiklikleri belirlemek için deneysel çalışma yapmışlardır. Çalışmada 4 saat iskemi (İ/R), 4 saat iskemi–1 saat reperfüzyon (İ/R–1 sa), 4 saat iskemi 24 saat reperfüzyon (İ/R–24 sa), 4 saat iskemi 72 saat reperfüzyon (İ/R–72 sa) grupları oluşturulmuş. Çalışma sonunda İR grubunda, kas dokusunda normal myofibriller yapı yanında mitokondriya kristalarında kümelenme ve kristaların azalması (Kristalizis) ile birlikte ödem, İR–1 sa reperfüzyon grubunda, kas dokusunda ödem, miyofibriler yapıda yoğunlukta artma ve nekroz, İR–24 sa grubunda kas dokusunda farklı morfolojik görünümler, ödemli doku, endomisyum ve perimisyumda nötrofil birikimi, sitoplazmada nekroz, İR–72 sa grubunda kas

dokusunda nekroz, bağ dokusunda nötrofil birikimi belirlenmiştir. Soleus kasından alınan örneklerde lezyonlarda reperfüzyon süresi ile orantılı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmamızda daha önceki çalışmaların sonuçlarına bakılarak 3 saatlik iskemi süresinin ardından 24 saatlik reperfüzyon süresi (84) öngörülmüştür. Çalışmamızda sugammadeks 4 mg/kg verilen grupta inflamatuvar hücre oluşumu 16 mg/kg tedavi verilen gruptan daha az olarak bulundu. Sugammadeks 16 mg/kg verilen grupta kas dejenerasyonu, inflamatuvar hücre gelişimi, vasküler konjesyon, ödem oluşumu açısından sham grubuna göre anlamlı fark vardı ve bu değerler sham grubuna göre daha kötü sonuçlandı.

Turnikeye bağlı iskemi-reperfüzyon hasarının giderilmesinde kolşisin (77), tramadol (78), silibilin (96), ilioprost (97), alfa-takorerol (98) gibi pek çok deneysel ajan kullanılmıştır, bununla beraber bu deneysel ajanların pek çoğu klinik pratikte kullanılmayan, insanlarda kullanımı için faz çalışmalarına başlanmamış ya da ruhsatlandırılmamış ajanlardır. İskemi-reperfüzyon hasarının oluştuğu durumlar özellikle çeşitli operasyonlar ve ameliyatlar ile ilgili olabilmektedir. Böyle bir durumda kullanılan anestezik ajanların I/R hasarına karşı etkinlikleri önem kazanmaktadır.

Turnikeye bağlı iskemi-reperfüzyon hasarının ameliyat sırasında kullanılan anestezik ajanlarla azaltılıp azaltılamayacağı ilk olarak Kahraman ve ark. tarafından yapılan bir çalışmayla araştırılmıştır (85). Bu çalışmada turnikeyle ekstremite cerrahisi geçirecek hastalarda bir gruba propofol ile total intravenöz anestezi (TIVA) uygulanırken diğer gruba izofluran ile genel anestezi verilmiştir. Hastaların kas dokusu ve kan örneklerinden MDA araştırıldığında, TIVA yapılan grupta MDA değerlerinin azaldığı gösterilmiştir.

Lucchinetti ve ark. sedatif konsantrasyondaki sevofluran (%0.5-1 end-tidal) inhalasyonunun lökosit aktivasyonu ve adezyonunun önlenerek endotel hasarının azaltılabileceğini ileri sürmüşlerdir (86).

Ketaminle yapılan başka bir çalışmada, diz artroskopisi yapılan hastalarda turnikeye bağlı iskemi-reperfüzyon hasarının azaltılabileceği bildirilmiştir (87). Ketaminle sedasyon yapılan grup ile plasebo karşılaştırıldığında hem kanda hem de dokuda hasarın azaldığı; bunun da ketaminin N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerini antagonize ederek kalsiyum girişini önlemesinden ve hedef organa kan akımını artırmasından kaynaklanabileceği açıklanmıştır (87).

Anestezi pratiğinde sık kullanılan ajanların kas İ/R hasarında koruyucu etkileri gösterilmiş olup yeni jenerasyon ajanlar için bilimsel veriler sınırlıdır ve sugammadeks bu ajanlardan biridir.

Sugammadeks, modifiye gamma-siklodekstrin yapıda nöromüsküler geri döndürücü ajanların ilk üyesidir. 2009 yılında ülkemizde kullanıma girmiştir (64). Sugammadeks genel anestezide yaygın olarak kullanılan amino steroid yapıda nöromüsküler bloker olan rokuronyum ve vekuronyumu çevreleyecek şekilde dizayn edilmiştir (65). Bu bağlanma sonucunda nöromüsküler bileşkedeki nikotinik reseptörlere bağlanan rokuronyum ve vekuronyum miktarı azalmaktadır. Nöromüsküler bileşkede meydana gelmiş olan blok geri döndürülmektedir (66).

Rivers ve ark. (88) ratlarda değişken hipoksi-iskemiden 30 dk sonra uygulanan HP-CD (hidroksipropil-b-siklodekstrin)'nin beyin hasarını önemli ölçüde azalttığını buldular. Araştırmacılar HP-CD'nin koruyucu etkisinin en az 15 gün sürdüğünü ve en etkin olarakta striatumda olduğunu kanıtladılar. Sugammadeksin moleküler yapısı ve yüksek moleküler ağırlığı nedeniyle plasenta ve kan-beyin bariyerinden geçişi düşüktür. Bu karakteristik özelliği sugammadeks türevlerinin santral sinir sisteminde belirgin bir toksisite oluşturmasını önler ancak kan-beyin bariyerinin bozulduğu nörodejeneratif hastalıklar, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, travmatik beyin/omurilik hasarı, iskemi, inflamatuvar veya immatür sinir sistemi gibi durumlarda değişebilir (88).

Birçok siklodekstrin grubu normal kalsiyum sinyal etkisi olmadan, glutamat eksitotoksitesi, NMDA ve oksijen-glikoz yoksunluğuna karşı kortikal nöronları korur (89). Metil-b-siklodekstrinin hipokampal alanları anoksinin etkisine karşı koruduğu bildirilmiştir (90). Abulrob ve ark. 2-hidroksipropil-b-siklodekstrinin (HP-CD) nöroprotektif etkisini saptamışlardır (91).

Yao ve ark. ratlar üzerinde yaptığı çalışmada HP-CD'nin açık bir şekilde nöroprotektif etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir (92).

Frank ve ark. metil-b-siklodekstrinlerin hipokampal alanda nöron uyarılabilirliğini azalttığını ve bunu postsinaptik alandan kolesterolü ayırarak yaptığını NMDA ve amino 3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionik asid reseptör bağlı glutamat iletimini bozarak yaptığını raporlamışlardır. Sinir uçlarından taşıyıcı aracılı glutamat salınımını azaltarak metil-b-siklodekstrinlerin inme, iskemi, travmatik beyin hasarında nöroprotektif rol oynadığını göstermişlerdir (93).

Palanca ve ark. (94) konsantrasyona bağlı olarak sugammadeksin primer hücre kültüründe apopitoza (nekroz ve nöron kaybına) neden olduğunu göstermişlerdir. Primer hücre kültüründe sugammadeks monoklonal sit-c (Cyt-c), apopitoz indükleyici faktör (AİF), anti-Smac/Diablo ve CASP-3 protein ekspresyonunu artırır. Sugammadeksin bu rolünün oksidatif

stres ile kolesterol hemostazının değişmesiyle ilgili olduğunu ve apopitotik aktivasyona neden olarak nöronal hücre tipleri arasında oksidatif strese karşı direnç/duyarlılık farkı nedeniyle olduğu düşünülmektedir.

Özbilgin ve ark (95) ratlar üzerinde oluşturulan 10 dakika global serebral iskemi 24 saat reperfüzyon modelinde sugammadeks 16 mg/kg ve 100 mg/kg dozlarında kullanılmış olup, tedavi gruplarında hipokampus ve paryetal korteksten alınan doku örneklerinin immünohistokimyasal değerlendirmesine göre TUNEL *(terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling)* sonuçları ve kaspaz değerleri serebral İ/R grubuna göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Özbilgin ve ark. sugammadeksin yüksek dozunun daha nöroprotektif olduğunu saptamışlardır. Bu çalışma sugammadeksin yüksek dozunun antioksidan etkisi olacağını göstermektedir. Çalışmamızda sugammadeksin kas İ/R hasarında etkisini görmek için 4 ve 16 mg/kg dozlarını kullandık. Gastrokinemus kasının histolojik değerlendirilmesinde 4 mg/kg verilen grupta inflamatuvar hücre gelişimi 16 mg/kg verilen gruba göre anlamlı düşük bulundu. Ayrıca 16 mg/kg verilen grupla sham grubu karşılaştırıldığında; vasküler konjesyon, inflamatuvar hücre, kas dejenerasyonu ve ödem oluşumu tedavi verilen grupta daha fazla bulundu. Özbilgin ve ark. serebral İ/R modelinde farklı iskemi süresini ve daha yüksek sugammadeks dozlarını kullanmaları nedeniyle sonuçları bizim çalışmamıza göre farklı çıkmış olabilir.

Literatürde sugammadeks ve diğer siklodekstrinlerle ilgili yapılan çalışmalarda bu farmakolojik ajanların nöroprotektif olduğu gösterilmiş fakat kas İ/R hasarında etkinliğini değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Biz çalışmamızda 4 mg/kg ve 16 mg/kg dozlarında sugammadeks kullandık. Sugammadeks dozunu daha önce hayvan deneylerinde kullanılan dozlar ve klinik uygulamada kullanılan dozları örnek alarak belirledik. Sugammadeks 16 mg/kg anestezi uygulamalarında kullanılabilecek en yüksek doz olduğundan bu dozu seçtik. (70,71,95)

Takhtfooladi HA ve ark.'nın (78) tramadol ile yaptıkları rat iskelet kası İ/R modelinde femoral artere 2 saat klemp uygulanmasının ardından 24 saat reperfüzyon sonrasında gastrokinemius kas dokusu ve kan örneklerinin MDA değerlendirilmesinde iskemi grubuna göre tramadol verilen grubun değerlerinde anlamlı düşüklük, SOD değerlerindeyse anlamlı artış saptamışlardır. Wang L ve ark. (77) yaptığı çalışmada rat iskelet kasına 3 saat iskemi 2 saat reperfüzyon sonrası kolşisin 1 mg/kg dozunda vermişler ve doku MDA değerlendirilmesinde iskemi grubuna göre anlamlı düşüklük bulmuşlardır. Başka bir çalışmada Ergün Y ve ark. (96) silibilinin farklı dozlarıyla (50, 100, 200 mg/kg) yaptığı rat

iskelet kası İ/R modelinde 3 saat iskemi 2 saat reperfüzyon sonrasında silibilinin tüm dozlarında doku MDA değerlerinin iskemi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde etmişlerdir. SOD değerlerinde ise farklılık bulamamışlardır. Bizim yaptığımız çalışmada ise MDA değerleri arasında anlamlı farklılık yoktu. MDA değerleri arasında fark olmamasının nedeni iskemi ve reperfüzyon süreleri arasındaki farklılıktan kaynaklanmış olabilir. Biyokimyasal değerlendirme için deneklerin kanlarını 24 saat reperfüzyondan sonra aldık, bu süre içinde iskemi yapılan gruplarda MDA artışı metabolize olup kandan temizlenmiş olabilir. Histolojik değerlendirmemizde kontrol grubunda sham grubuna göre kas dejenerasyonu, vasküler konjesyon, inflamatuvar hücre ve ödem oluşumu açısından anlamlı farklılık vardı. Buradan yola çıkarak rat iskelet kası İ/R modelimizde turnike kaynaklı bir sorun olduğunu düşünmüyoruz. SOD değerleri açısından ise sadece 16 mg/kg verilen grupla 4 mg/kg verilen grup arasında anlamlı farklılık saptandı.

Takhtfooladi HA ve ark. (78) nın 20 mg/kg tramadol ile yaptıkları rat iskelet kası İ/R modelinde femoral artere 2 saat klemp / 24 saat reperfüzyon uygulanmış olup; femoral klemp kaldırılmadan hemen önce tramadol verilmiş ve pH, pCO_2 düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel fark bulunmamıştır. Tramadol verilen grupta ise daha yüksek pO_2, HCO_3 düzeyleri elde etmişlerdir. Çalışmamızda sham grubu ile kontrol grupları arasında pO_2, pCO_2, pH sonuçları arasında anlamlı farklılık vardı. Sugammadeks 4 mg/kg verilen grubun pH ve pCO_2 değerleri kontrol grubundan daha iyi sonuçlandı. Sugammadeks 4 mg/kg verilen grubun pO_2 ve pCO_2 sonuçları 16 mg/kg verilen grubun sonuçlarından istatistiksel olarak daha anlamlı bulundu. Arter kan gazında HCO_3 değerleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Pulmoner fonksiyonların tramadolle korunması nedeniyle pO_2 değeri daha yüksek bulunmuş olabilir. Bozkurt AK (97) yaptığı rat iskelet kası İ/R modelinde E vitamini ve iloprostun etkinliğini değerlendirmek amacıyla 4 saat iskemi 1 saat reperfüzyon sürelerinin ardından iloprost ve E vitamini verilen gruplarda pO_2 ve HCO_3 değerlerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada sham grubuyla kontrol grubu karşılaştırıldığında pO_2 ve pH değerleri sham grubunda daha yüksek; pCO_2 değeri daha düşüktü. Sugammadeks 4 mg/kg verilen grubun pO_2 ve pCO_2 sonuçları 16 mg/kg verilen grubun sonuçlarından istatistiksel olarak daha anlamlı olarak bulundu. Arter kan gazında HCO_3 değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

Silva MG ve ark.'nın (98) rat iskelet kası İ/R modelinde alfa-takoferolün etkisini araştırmak amacıyla 50 mg/kg alfa-takoferolü intravenöz yolla uygulamış ve arteryel kan gazında pH, pO_2, pCO_2 değerleri açısından gruplar arasında farklılık olmazken sham

grubunda HCO_3 değeri iskemi-reperfüzyon yapılan gruptan daha büyük bulunmuştur. Çalışmamızda sham grubu ile kontrol grubu arasında pO_2, pCO_2, pH sonuçları arasında anlamlı farklılık vardı sham grubunda pO_2, pH değerleri daha yüksek pCO_2 daha düşüktü. Sugammadeks 4 mg/kg verilen grupla kontrol grubu karşılaştırıldığında tedavi verilen grupta pH daha yüksek pCO_2 değeri daha düşük bulundu. Sugammadeks 4 mg/kg verilen grubun pO_2 ve pCO_2 sonuçları 16 mg/kg verilen grubun sonuçlarından istatistiksel olarak daha anlamlıydı. Arter kan gazında HCO_3'ın değerlendirilmesinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Gruplar arasında kan gazı sonuçlarının değerlendirilmesinde sugammadeks 4 mg/kg verilen grubun sonuçları hem iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan gruba göre hem de sugammadeks 16 mg/kg verilen grubun sonuçlarından daha anlamlıydı. Belkide sugammadeksin yüksek dozu ratlarda pulmoner fonksiyonları etkilemiş ve 16 mg/kg verilen grubun pO_2 ve pCO_2 değerlerinin daha kötü çıkmasına neden olmuş olabilir ama bu konu başka bir çalışmanın konusudur.

Normal iskelet kası LDH ve CK enzimlerini içerir. LDH iskelet kasında bulunan sitozolik bir enzimdir ayrıca başka dokularda da bulunabilir. LDH kas hasarını değerlendirmek için spesifikliği düşük bir enzimdir ama yine de doku hasarı için genel bir ölçüdür. Kreatin kinaz, iskelet kasında ağırlıklı bulunan sitozolik bir enzimdir ve iskelet kas hasarının güvenilir bir göstergesidir. (99)

Takhtfooladi HA ve ark.'nın (78) tramadolle yaptıkları çalışmada İ/R grubunda LDH ve CK düzeyleri diğer gruplara göre istatistiksel olarak arttığını, tramadol uygulanan grupta CK ve LDH değerlerinin azaldığını göstermişlerdir. Tramadolün kas İ/R hasarını azaltabileceği yönünde görüş bildirmişlerdir. Bozkurt AK (97) yaptığı benzer bir çalışmada kas İ/R hasarında iloprost ve alfa takoferol uygulamasının kontrol grubuna göre tedavi gruplarında CK ve LDH değerlerinde düşme tespit etmişlerdir. Silva MG ve ark.'nın (98) yaptığı kas İ/R modelinde 4 saat iskemi 2 saat reperfüzyon döneminin ardından alınan kan örneklerinden E vitamininin etkisini değerlendirmişlerdir. E vitamini verilen grupta LDH açısından anlamlı farklılık saptanmazken; CK istatistiksel olarak anlamlı düşüş göstermiştir. Bizim çalışmamızda; kontrol grubuna göre hem sugammadeks 4 mg/kg hem de 16 mg/kg verilen gruplar arasında CK sonuçları açısından anlamlı farklılık saptandı. Sugammadeks 16 mg/kg verilen grupta LDH değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı düşüklük saptandı. CK ve LDH kasa özgü olmasa da kas hasarında artış göstermekte olup sugammadeksin iskelet kası İ/R hasarında etkili olabileceği yönünde işaret etmektedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışmada tek taraflı alt ekstremite İ/R hasarında sugammadeksin doza bağlı etkisini değerlendirmeyi amaçladık. 4 mg/kg dozunda verilen sugammadeksin hem histolojik hem de biyokimyasal olarak 16 mg/kg dozuna göre daha etkili olabileceği sonucuna vardık. Literatürde sugammadeksin antioksidan etkinliğiyle ilgili sınırlı ve çelişkili bilgiler vardır.

Bu çalışmanın farklı model, hayvan sınıfları ve farklı dozlarda tekrarlanması sugammadeksin nöroprotektif ve iskemi reperfüzyon hasarı üzerindeki etkisini daha iyi anlaşılmasını sağlayacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1) Gute DC, Ishida T, Yarimizu K, Korthuis RJ. Inflammatory responses to ischemia and reperfusion in skeletal muscle. *Mol Cell Biochem* 1998; 179:169-87.

2) Köksal C, Bozkurt A, Şirin G. Aprotinin ameliorates ischemia/reperfusion injury in rat hind limb model. *Vascul Pharmacol* 2004; 41:125-9.

3) Hobson RW, Neville R, Watanabe B. Role of heparin in reducing muscle infarction in ischemai-reperfusion. *Ann Acad Med Stetin* 1989; 35.131-43.

4) Blaisdell F W. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovasc Surg* 2002; 10: 620-30.

5) Duru S, Koca U, Öztekin S, Olguner Ç, Elar Z. Antithrombin III pretreatment reduces neutrophil recruitment into the lung and skeletal muscle tissues in the rat model of biletaral lower limb and reperfusion: A pilot study. *Acta Anaesthesiol Scand* 2005; 49: 1142-48.

6) Dammers R, Wehrens T, Slaf D.W. Microcirculatory effects of experimental acute limb ischaemia-reperfusion. *Br J Surg* 2001; 88: 816-24.

7) Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994; 81: 637-47.

8) Cotran RS, Kumar V, Robbins SL: Robbins-Pathologic Basis of Disease, Fifth edition, W.B. Philadelphia Pennsylvania. *Saunders Company* 1994; 1-34.

9) Rubin BB, Romaschin AD, Walker PM, et al. Mechanisms of postischemic injury in skeletal muscle: Intervention strategies. *J Apl Physiol* 1996; 80: 369-87.

10) Lindsay T, Romaschin A, Walker PM. Free radical mediated damage in skeletal muscle. *Microcirc Endothelium Lymphatics* 1989; 5: 157-70.

11) Hearse DJ, Humphrey RM, Chain EB. Abrupt reoxygenation of the anoxic potassium arrested rat heart: A study of myocardial enzyme release. *J Mol Cell Cardiol* 1973; 5: 395-07.

12) Wright JG, Fox D, Kerr JC et al. Rate of reperfusion blood flow modulates reperfusion injury in skeletal muscle. *J Surg Res* 1988; 44: 754-63.

13) Korthuis RJ, Granger DN, Townsley MI et al. The role of oxygen derived free radicals in Ischemia induced increases in vanine skeletal muscle vaskuler permeability. *Circ res* 1985; 57: 599-00.

14) Smith JK, Carden DL, Grisham MB et al. Role of iron in postischemic microvaskuler injury. *Am J Physiol* 1989; 256:1472-77.

15) Fantini GA, Yoshioka T. Desferoxamine prevents lipid peroxidation and attenuates reoxygenation injury in postischemic skeletal muscle. *Am J Physiol* 1993;264: 1953-59.

16) Beckman JS, Beckman TW, Chen J et al. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrit: implications for endothelial cell injury from nitric oxide and superoxide. Proc Natl *Acad Sci USA* 1990;87: 1620-24.

17) Gute DC, Ishida T, Yarimizu K et al. Inflamatory responses to ischaemia and reperfusion in skeletal muscle. *Mol Cell Biochem* 1998;179:169-87.

18) Rubin BB, Smith A, Liauw S et al. Complement activation and white cell sequestration in postischemic skeletal muscle. *Am J Physiol* 1990; 259:525-31.

19) Belkin M, Wright JG, Hobson RW. Iloprost infusion decreases skeletal muscle Ischeamia-reperfusion injury. *J Vasc Surg* 1990; 11: 77-3.

20) Hayes G, Liauw S, Smith A et al. Exogenous magnesium chloride-adenosine triphosphate administration during reperfusion reduces the extent of necrosis in previously ischemic skeletal muscle. *J Vasc Surg* 1990; 11: 441-48.

21) Carden DL, Smith JK, Korthuis RJ: Neutrophil mediated microvascular dysfunction in postischemic canine skeletal muscle. *Circ Res* 1990; 66: 1436-44.

22) Korthuis RJ, Grisham MB, Granger DN: Leukocyte depletion attenuates vascular injury in postischemic skeletal muscle. *Am J Physiol* 1988; 254: 823-27.

23) Rubin BB, Chang G, Liauw S et al. Phospholipid peroxidation depletion and remodeling in postischemic skeletal muscle. *Am J Physiol* 1992; 263: 1695-02.

24) Bevilacqua MP, Sengelin S, Gimbrone MA et al: Endothelial leukocyte adhesion molecule an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins. *Science Wash DC* 1989; 243: 1160-65.

25) Kishimoto TK: A dynamic model for neutrophil localization to inflammatory sites. *J Natl Inst Health Res* 1991; 3: 75-7.

26) Wesselcouch R, Goldman G, Paterson IS et al. Effect of in vivo inhibition of neutrophil adherence on skeletal muscle function during Ischeamia in ferrets. *Am J Physiol* 1991; 261: 1178-83.

27) Petresak PF, Liauw S, Romaschin AD et al. Salvage of postischemic skeletal muscle by monoclonal antibody blockade of neutrophil adhesion molecule CD18. *J Surg Res* 1994;56:512-13.

28) Jerome SN, Dore M, Paulson JC et al. P-selectin and ICAM-1-dependent adherence reactions: role in the genesis of postischemic no-reflow. *Am J Physiol* 1994; 266: 1316-21.

29) Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Prevention of Ischemia–Reperfusion Injury. *Anesthesiology* 2001; 94: 1133-38.

30) Engels W, Van Bilsen M, DeGroot MTM. Ischeamia and reperfusion-induced formation of eicosanoids in isolated rat hearts. *Am J Physiol* 1990; 258: 1865-71.

31) Goldman G, Welbourn R, Paterson IS et al. Ischeamia-induced neutrophil activation and diapedesis is lipoxygenase dependent. *Surgery St Louis* 1990; 107: 428-33.

32) Seekamp A, Mulligan MS, Till GO et al Requirements for neutrophil products and L-arginine in Ischeamia-reperfusion injury. *Am J Pathol* 1993; 142: 1217-26.

33) Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygen free radicals. *Jap J Physiol* 1996; 46: 15-32.

34) Fleming J, Miguel J, Econimos A. Is cell aging caused by respiration dependent injury to the mitokondrial genome. *Gerontol* 1982; 28-44.

35) Jugdutt BI: Nitric oxide and cardioprotection during Ischeamia-reperfusion. *Heart Failure Reviews* 2002; 7: 391-05.

36) Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM et al. Biomarkers of free radikal damage applications in experimental animals and humans. *Free Radic Biol Med* 1996; 26: 202-26.

37) Ertan T, Soran A, Kılıç M ve ark. Kan MDA ve total antioksidan seviyesinin (TAS) önemi. Cerrahi Tıp Bülteni 2001; 24:154-67.

38) Storz G, Imlay JA: Oxidative stres. *Cur Opin Microbiol* 1992;188-94.

39) Gutteridge JMC: Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-28.

40) Girotti AW: Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J Lipid Res* 2000; 3: 1529-42.

41) Johnson F, Giulivi C: Superoxide dismutases and their impact upon human health. *Mol Aspects Med* 2005; 26: 340-52.

42) Beutler E: Red cell metabolism. A manuel of biocemical methods. *New York: In Grune and stratton* 1973.p.74.

43) Kurokawa T, Kobayashi H, Nonami T et al. Mitokondrial glutathione redox and energy producing function during liver ischemia and reperfusion. *J Surg* 1996; 66: 1-5.

44) Faraji B, Kang HK, ValentineJL: Methods compared for determining glutathione peroxidase activity in blood. *Clin chem* 1987; 33: 539-43.

45) Stein HJ, Oosthuizen MMJ, Hinder RA et al. Oxygen free radicals and glutatyone in hepatic ischemia-reperfusion injury. *J Surgery* 1991; 50: 398-02.

46) Bergmayer J, Grabl M. *Methods of enzymatic analysis* 1983;190-02.

47) Mc Cord J. Oxygen derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Eng J Med* 1985; 312: 159-63.

48) Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. Klinik gelişim 1998;11: 336-41.

49) Song LX, Bai L, Xu XM et al. Inclusion complexation, encapsulation interaction and inclusion number in cyclodextrin chemistry. *Coord Chem Rev* 2009; 253, 1276-84.

50) Szejtli J. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chem Rev* 1998; 98, 1743-53.

51) Eastburn SD, Tao BY. Applications of modified cyclodextrins. *Biotechnol Adv* 1994; 12, 325-39.

52) Starnes RL. Industrial potential of cyclodextrin glycosyltransferases. *Cereal Food World* 1990; 35(11), 1094- 99

53) Singh M, Sharma R, Banerjee UC. Biotechnological applications of cyclodextrins. *Biotechnol Adv* 2002; 20, 341-59.

54) Szejtli J. Past, present, and future of cyclodextrin research. *Pure Appl Chem* 2004; 76, 1825-45.

55) Loftsson T, Duchene D. Cyclodextrins and their pharmaceutical application. *Int J Pharm* 2007; 329(1-2), 1-11.

56) Crini G, Morcellet M. Synthesis and applications of adsorbents containing cyclodextrins. *J Sep Sci* 2002; 25, 789-13.

57) Magnusdottir A, Mason M, Loftsson T. Cyclodextrins. *J Inclusion Phenom Macrocyclic Chem* 2002; 44, 213-18.

58) van de Manakker F, Vermonden T, van Nostrum CF. Et al. Cyclodextrin-based polymeric materials: synthesis, properties, and pharmaceutical/biomedical applications. *Biomolecules* 2009; 10(12), 3157-75.

59) Zhang MQ, Rees D. A review of recent applications of cyclodextrins for drug discovery. *Expert Opin Ther Pat* 1999; 9(2), 1697-17

60) Astray G, Barreioro CG, Mejuto JC et al. A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids* 2009; 23, 1631-40.

61) Del Valle EMM. Cyclodextrins and their uses. *Process Biochem* 2004; 39, 1033-46.

62) Qi Q, Zimmermann W. Cyclodextrin glucano-transferase: from gene to applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 2005;66, 475-85.

63) Mahat MK, Illias RM, Rahman RA et al. Production of cyclodextrin glucanotransferase (CGTase) from alkalophilic Bacillus sp. TS1-1: media optimization using experimental design. *Enzyme Microb Technol* 2004; 35, 467-73.

64) Bom A, Bradley M, Cameron K. A novel concept of reversing neuromuscular block: chemical encapsulation of rocuronium bromide by a cyclodextrin-based synthetichost. *Angew Chem Int Ed Engl* 2002;4:(2) 266-70.

65) Stair C, Fernandez-Bustamante A. Sugammadex, the first selective relaxant binding agent for neuromuscular block reversal. *Drugs Today (Barc)* 2012;48(6):405- 13.

66) Miller RD. Sugammadex: an opportunity to change the practiceof anesthesiology. *Anesth Analg* 2007;104(3):477-8.

67) International Conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. The clinical evaluation of QT/QTc interval prolongation and proarrhythmic potential for non-anti arrhythmic drugs. Current Step 4 version dated 12 May 2005.

68) Staals LM, Snoeck MMJ, Driessen JJ, et al. Multicentre, parallel-group, comparative trial evaluating the efficacy and safety of sugammadex in patients with end-stage renal failure ornormal renal function. *Br J Anaesth* 2008;101(4):492-7.

69) Plaud B, Meretoja O, Hofmockel R, et al. Reversal of rocuronium-induced neuromuscular blockade with sugammadexin pediatric and adult surgical patients. *Anesthesiology* 2009;110(2):284-94.

70) Rosemary MGH, Rajinder KM. Sugammadex a selective relaxant binding agent forn reversal of neuromuskuler block. *Neurother* 2009;9(5):599-08.

71) Peeters PA, van den Heuvel MW, van Heumen E, et al. Safety, tolerability and pharmacokinetics of sugammadex using single high doses (up to 96 mg/kg) in healthy adult subjects: a randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled, single-centre study. *Clin Drug Investig* 2010;30(12):867-74.

72) Erkanli K, Kayalar N, Erkanli G ve ark. Melatonin protects against ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle. *J Pineal Res* 2005, 39(3):238-42.

73) Stevens A, Wilson I. The haematoxylin and eosin. In: Bancroft J. D.Stevens A. editors. Theory and Practice of Histological Techniques. 4. edition: *Churchill Livingstone*;p.99, 1996.

74) Bradbury P, Rae K. Connective tissues and stains. In: Bancroft J. D.Stevens A. editors. Theory and Practice of Histological Techniques. 4. edition: *Churchill Livingstone*;pp.125-29, 1996.

75) Blaisdell F W. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovasc Surg* 2002; 10: 620-30.

76) Wakai A, Wang J, Winter D. Tourniquet-ınduced systemic inflammatory response in extremity surgery. *J Trauma* 2001; 51: 922-26.

77) Wang L, Shan Y, Chen L et al. Colchicine protects rat skeletal muscle from ischemia/reperfusion injury by suppressing oxidative stress and inflammation. *Iran J Basic Med Sci* 2016; 19:670-75.

78)Takhtfooladi HA, Karimi P, Asl HA et al. Influence of tramadol on ischemiae reperfusion injury of rats skeletal muscle. *International Journal of Surgery* 2014;12: 963-68.

79) Alizan A, Khalil C, Farah A et al. Reperfusion injury. *Plast. Reconstr Surg* 2006;117: 1024–33.

80) Appell H J, Glöser S, Duarte JA et al. Skeletal muscle damage during tourniquet-induced ischaemia. The initial step towards atrophy after orthopaedic surgery? *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1993;67:342–7.

81) Petrasek PF, Homer-Vanniasinkam S, Walker PM. Determinants of ischemic injury to skeletal muscle. *J Vasc Surg* 1994;19:623–31.

82) Skjeldal S, Torvik A, Grøgaard B, Nordsletten L, Lyberg T. Histological studies on postischemic rat skeletal muscles. With emphasis on the time of leukocyte invasion. *Eur Surg Res* 1993;25:348–57.

83) Sirsjö A, Gidlöf A, Nilsson G, Povlsen B. Skeletal muscle blood flow after prolonged tourniquet ischaemia and reperfusion with and without intervening reoxygenation: an experimental study in rats using laser Doppler perfusion imaging. *Scand J Plast Reconstr Surg*

Hand Surg 1999;33: 281–5.

84) Edna M, Maeli D, Vitalino D. Ischaemia and reperfusion effects on skeletal muscle tissue: Morphological and histochemical studies. *Int J Exp Path* 2007; 88: 147–54.

85) Kahraman S, Kılınc K, Dal D ve ark. Propofol attenuates formation of lipid peroxides in tourniquet-induced ischaemiareperfusion injury. *Br J Anaesth* 1997; 78: 279-81.

86) Lucchinetti E, Ambrosio S, Aquirre J et al. Sevoflurane inhalation at sedative concentrations provides endothelial protection against ischemia-reperfusion injury in humans. *Anesthesiology* 2007; 106: 262-8.

87) Saricaoglu F, Dal D, Salman AE ve ark. Ketamine sedation during spinal anesthesia for arthroscopic knee surgery reduced the ischemia-reperfusion injury markers. *Anesth Analg* 2005; 101: 904-9.

88) Rivers JR, Sutherland BA, Ashton JC. Characterization of a rat hypoxia ischemia model where duration of hypoxia is determined by seizure activity. *J Neurosci Methods* 2011;197:92-6.

89) Rufini S, Grossi D, Luly P et al. Cholesterol depletion inhibits electrophysiological changes İnduced by anoxia in CA1 region of rat hippocampal slices. *Brain Res* 2009;1298:178-85.

90) Rivers JR, Maggo SDS, Ashton JC. Neuroprotective effect of hydroxypropyl-b-cyclodextrin in hypoxia-ischemia. *Neuro Report* 2012;23:134-8.

91) Abulrob A, Tauskela JS, Mealing G et al. Protection by cholesterol-extracting cyclodextrins: a role for N-methyl-D-aspartate receptor redistribution. *J Neurochem* 2005;92:1477-86.

92) Yao J, Ho D, Calingasan NY et al. Neuroprotection by cyclodextrin in cell and mouse models of Alzheimer disease. *J Exp Med* 2012;209(13):2501-13.

93) Frank C, Rufini S, Tancredi V et al. Cholesterol depletion inhibits synaptic transmission and synaptic plasticity in rat hippocampus. *Exp Neurol* 2008;212:407-14.

94) Palanca JM, Aguirre-Rueda D, Granell M. Sugammadex, a neuromuscular blockade reversal agent, causes neuronal apoptosis in primary cultures. *Int J Med Sci* 2013;10:1278-85.

95) Ozbilgin S, Yılmaz O, Ergur BU, Hancı V, Ozbal S, Yurtlu S ve ark. Effectiveness of sugammadex for cerebral ischemia/reperfusion injury. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences* 2016; 32, 292-01.

96) Ergün Y, Üremiş M, Kılınç M, Alıcı T. Antioxidant effect of Legalon® SIL in ischemia-reperfusion injury of rat skeletal muscle. *Acta Cirúrgica Brasileira - Vol. 31 (4)* 2016;264-70.

97) A.K. Bozkurt, Alpha-tocopherol and iloprost attenuate reperfusion injury in skeletal muscle ischemia/reperfusion injury, *J. Cardiovasc. Surg*. 2002;43: 693-96.

98) Silva MG, Castro AA, Ramos EAG, et al. Histological and biochemical serum effects of alpha-tocopherol on ischemia/reperfusion-related injuries induced in the pelvic limb of rats, *Acta Cir. Bras.* 2005; 20 (5): 375-81.

99) Tay SK, Ong HT, Low PS. Transaminitis in Duchenne's muscular dystrophy, *Ann. Acad. Med. Singap* 2000; 29: 719-22.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
35340, İnciraltı, İzmir-232 4122234

Gündem No/ Toplantı No/Yıl : 02/07/2016
Toplantı Tarihi : 29 Mart 2016

Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanlığı'na

15/2016 Protokol No'lu; Anabilim Dalınız Öğretim Üyelerinden Prof.Dr.Semih KÜÇÜKGÜÇLÜ'nün yürütücüsü olduğu **"Ratlarda ekstremite modelinde Sukammadeksin iskemi reperfüzyon üzerine etkisi"** isimli; Ali ALAGÖZ, Nilay BOZTAŞ, Volkan HANCI, Esin YULUĞ , Ali Rıza ŞİŞMAN'ın araştırıcı olduğu, 28 adet rat'ın kullanılacağı projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

Prof.Dr.Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Başkanı

Prof.Dr.Ali Necati GÖKMEN
Başkan Vekili

Prof.Dr.Safiye AKTAŞ
Üye

Prof.Dr.Hüsnü Alper BAĞRIYANIK
Üye

Prof.Dr.Gülgün OKTAY
Üye

Prof.Dr. Hatice Nur OLGUN
Üye

(Topl.Katılamadı)
Prof.Dr.Mehmet Ensari GÜNELİ
Üye

Prof.Dr.Günay KIRKIM
Üye

Doç.Dr.Meral KARAMAN
Üye

Doç.Dr.Pembe UYGUN KÜSKİNOĞLU
Üye

Doç.Dr.Türkan ERTAY
Üye

Doç.Dr.Nermin Nüket GÖÇMEN MAS
Üye

Doç.Dr.Zekiye Sultan ALTUN
Üye

Yard.Doç.Dr.Orhan KALEMCİ
Üye (Topl.Katılamadı)

Z. Kınam
Zehra KINAM
Üye

Vet.Hekim Adnan SERPEN
Üye (Topl.Katılamadı)

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin metin içinde **bold** karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.