

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KALP DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**KARDİYO-PULMONER BYPASS (CPB) EŞLİĞİNDE KORONER
ARTER BYPASS GREFT (CABG) CERRAHİSİNDE İSKEMİ-
REPERFÜZYON HASARINA KARŞI AMİODARON' UN
ETKİNLİĞİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Soner AZAK

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ali RAHMAN

ELAĞIĞ

2009

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ali Rahman

Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ali Rahman

Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____

Çok Değerli Anneme, Babama

Sevgili Eşime ve Çocuklarıma...

TEŞEKKÜR

İhtisas sürem esnasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Ali Rahman'a, Doç. Dr Oktay Burma'ya, Yard. Doç. Dr. Cengiz Çolak'a, birlikte çalıştığım araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve Kalp Damar Cerrahisi kliniği hemşire ve personeline sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında katkılarından dolayı Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD. öğretim üyesi Prof. Dr. M. Kemal Bayar'a, Biyokimya AD. öğretim üyesi Prof. Dr. Bilal Üstündağ'a, Biyokimya AD araştırma görevleri Dr. Esra Koçdemir'e ve Dr. Enver Sancaktar'a ayrıca Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji AD öğretim üyesi Doç. Dr. Kemal Balcı'ya teşekkür ederim.

ÖZET

İskemi reperfüzyon hasarı, iskemik bölgedeki kan akımının yeniden sağlanması ile ortaya çıkan metabolik ve fonksiyonel değişikliklere verilen genel bir tanımlamadır.

Kardiyak cerrahi sırasındaki iskemi reperfüzyon hasarını minimize etmek ve myokardı korumak için çeşitli antioksidan ajanlar kullanılmaktadır. Aritmi tedavisinde sık kullanılan bir ajan olan amiodaron'un son yıllarda antioksidan özelliklerinin de olduğu belirtilmektedir. Biz bu çalışmamızda preoperatif atriyal fibrilasyon profilaksisi için önerilmiş ve etkili bulunmuş olan yüksek doz oral amiodaron tedavisinin kardiyopulmoner bypass (CPB) sırasında gelişen iskemi reperfüzyon hasarına karşı etkisi olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Çalışmaya her iki cinsten CPB ile koroner arter bypass cerrahisi uygulanacak 20 hasta alınıp grup 1 (Kontrol grubu, n=10) ve grup 2 (Amiodaron grubu, n=10) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Grup 1'deki hastalara herhangi bir ilaç verilmezken Grup 2'deki hastalara preoperatif 1. günde amiodaron 200 mg tablet (Cordarone, 200 mg Sanofi - Türkiye) günde 4 kez 2 tablet, operasyon günü 2 kez 3 tablet ve postoperatif dönemde de 4 gün boyunca 2 kez 2 tablet olarak toplam 6 gram olarak verildi. Tüm hastalarda hemodinamik değişkenler anestezi indüksiyonu öncesi (T₁), CPB öncesi (T₂), protamin sonrası (T₃) ve postoperatif 24. saatte (T₄) olmak üzere dört dönemde ölçüldü. Oksidatif stresin biyokimyasal değerlendirilmesi için malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) ve nitrik oksit (NO) seviyelerine ise anestezi indüksiyonu öncesi (T₁), CPB sırasında (T₂), kross klemp kaldırıldıktan sonra 5. dakikada (T₃), protamin sonrası (T₄) ve postoperatif 1. (T₅), 3. (T₆) ve 5. (T₇) günlerde olmak üzere yedi dönemde sistemik arteriyel kan örnekleri alındı.

İlaça bağlı herhangi bir yan etkinin görülmediği çalışmamızda kalp hızının, amiodaron grubundaki T₁ ve T₂ dönemlerinde, kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı görüldü (p<0.05). Tüm dönemlerde amiodaron alan grupta daha düşük MDA seviyeleri tespit edildi ancak anlamlı değildi. Amiodaron CAT, SOD ve GSH-Px enzimleri üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmazken, NO

seviyeleri amiodaron alan hastalarda T₁ dönemi hariç tüm dönemlerde kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek ölçüldü ($p<0.05$).

Sonuç olarak açık kalp cerrahisinde rutin kullanılan bir antiaritmik ajan olan amiodaronun, ek olarak iskemi reperfüzyon hasarından korunmada olumlu etkilerinin olabileceği kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: Amiodaron, koroner arter bypass cerrahisi, iskemi reperfüzyon hasarı

ABSTRACT

The Effect of Amiodarone Against the Damage Due to Ischemic Reperfusion During the Surgery Of Coronary Artery Bypass Graft With Cardio-Pulmonary Bypass

The term of ischemic reperfusion injury represents the metabolic and functional changes after the reperfusion of ischemic tissue area.

Various antioxidant drugs are used to minimize the damage due to reperfusion injury and to prevent cardiac tissue during cardiac surgery. Amiodarone is a drug oftenly used in the treatment of arrhythmia. In recent years, the antioxidant property of amiodarone is also known. In this study, we aimed to evaluate the effect of high dose of oral amiodarone which was effective in the treatment of preoperative atrial fibrillation, in the prevention of reperfusion injury during cardio-pulmonary bypass surgery.

Twenty patients undergoing coronary artery bypass graft surgery with cardio-pulmonary bypass were included in the study. The subjects were divided into two groups (control subjects, n=10, and amiodarone group, n=10). The control subjects were not recieved any drug. The patients received 200 mg amiodarone (Cordarone, 200 mg Sanofi - Turkey) on preoperative day, 1600 mg amiodarone on the first day (in four divided doses), 600 mg amiodarone on the surgery day (in three divided doses), and 800 mg amiodarone for four days after the surgery (in two divided doses). The total dose of amiodarone was 6 gr. Hemodynamical changes of all patients were measured four times; before the induction of anesthesia (T₁), before CPB (T₂), after protamine (T₃), and at 24th hour after the surgery (T₄). Malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT) and nitric oxide (NO) values were measured for biochemical evaluation of oxidative stress before the induction of anesthesia (T₁), during CPB (T₂), five minutes after the clamp was removed (T₃), after protamine (T₄) and at 1. (T₅), 3. (T₆) and 5. (T₇) postoperative days.

No side effect due to drug was observed. Heart rate was found more decreased in amiodarone group at T₁ and T₂ stages when compared with controls (p<0.05). Low MDA values were found in amiodarone group at all stages but the difference was not statistically significant. The effect of amiodarone on CAT, SOD

and GSH-Px enzymes was not statistically significant, but the values of NO were found significantly increased in amiodarone group at all stages except T₁ (p<0.05).

As a result, amiodarone, an antiarrhythmic drug used routinely in open heart surgery, may also have value to prevent ischemic reperfusion tissue injury.

Key words: Amiodarone, coronary artery bypass surgery, ischemic reperfusion injury

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
İÇİNDEKİLER	ix
TABLO LİSTESİ	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
KISALTMALAR LİSTESİ	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Kardiyak iskemi-reperfüzyon hasarı	1
1.2. Serbest radikaller	8
1.2.1. Serbest radikal türleri	9
1.2.1.1. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)	10
1.2.1.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)	11
1.2.1.3. Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)	12
1.2.1.4. Singlet oksijen (1O_2)	13
1.2.1.5. Hipokloröz asit ($HOCl$)	13
1.2.1.6. Peroksinitrit ($OONO^{\cdot}$)	13
1.2.1.7. Nitrik oksit ($NO^{\cdot}$)	13
1.2.2. Serbest radikallerin etkileri	15
1.2.2.1. Serbest radikaller ile oluşan lipid peroksidasyonu	15
1.2.2.2. Serbest radikaller ile oluşan protein hasarı	16
1.2.2.3. Serbest radikaller ile oluşan karbonhidrat hasarı	17
1.2.2.4. Serbest radikaller ile oluşan nükleik asit ve DNA hasarı	17
1.3. Antioksidan savunma sistemleri	17
1.3.1. Enzimatik antioksidanlar	18
1.3.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)	18
1.3.1.2. Glutatyon redüktaz (GR)	19
1.3.1.3. Glutatyon peroksidaz (GSH -Px)	20
1.3.1.4. Katalaz (CAT)	20
1.3.1.5. Mitokondriyal sitokrom oksidaz	21

1.3.2.Enzimatik olmayan antioksidanlar	21
1.3.2.1. C vitamini (askorbik asit)	21
1.3.2.2. β -karoten (Vitamin-A)	21
1.3.2.3. E vitamini (α -tokoferol)	22
1.3.2.4. Seruloplazmin	22
1.3.2.5. Melatonin	22
1.3.2.6. Bilirubin	22
1.3.2.7. Ubikinonlar	22
1.3.2.8. Ürik asit	23
1.3.2.9. Albumin	23
1.3.2.10. Laktoferrin, Transferrin, Haptoglobin ve Östrojen	23
1.3.2.11. Glutatyon (GSH)	23
1.3.3. Eksojen antioksidanlar	24
1.3.3.1. Kalsiyum antagonistleri	24
1.3.3.2. Na^+/H^+ değiştirici inhibitörleri	24
1.3.3.3. NO-donörleri	24
1.3.3.4. Kontraktilite inhibitörleri	24
1.3.3.5.Adenozin veya adenozin reseptör agonistleri	24
1.3.3.6. Anjiotensin converting enzim (ACE) inhibitörleri	25
1.3.3.7. Kompleman sistem inhibitörleri	25
1.3.3.8. Endotelin-1 reseptör antagonistleri	25
1.3.3.9. Glukoz-insülin-potasyum solüsyonları	25
1.3.3.10.Statinler	25
1.3.3.11.Mağnezyum (Mg)	26
1.3.3.12. Trimetazidin	26
1.3.3.13.Aprotinin	26
1.3.3.14. ATP duyarlı potasyum kanal açıcılar	26
1.3.3.15.Diğerleri	26
1.4. Amiodaron	26
1.4.1 Elektrofizyolojik etkiler	27
1.4.2. Hemodinamik etkiler	28

1.4.3. Farmakokinetik	28
1.4.4. Endikasyonlar	29
1.4.5. İstenmeyen etkiler	30
1.4.6. Amiodaron ve açık kalp cerrahisi	32
1.4.7. Amiodaron ve antioksidan aktivite	32
2. GEREÇ VE YÖNTEMLER	34
2.1. Anestezi ve cerrahi işlem	34
2.2. Myokard korunması	35
2.3. Hemodinamik ölçümler	35
2.4. Biyokimyasal analiz	35
2.4.1. Serum malondialdehit (MDA) tayini	36
2.4.2. Plazma nitrik oksit (NO [•]) tayini	36
2.4.3. Eritrosit süperoksit dismutaz (SOD) tayini	36
2.4.4. Eritrosit glutatyon peroksidaz (GSH-Px) tayini	37
2.4.5. Eritrosit katalaz (CAT) tayini	37
2.5. İstatistiksel analiz	37
3. BULGULAR	38
3.1 Hemodinamik verilerin değerlendirilmesi	38
3.2. Biyokimyasal verilerin değerlendirilmesi	45
3.2.1. Serum malondialdehit(MDA) aktivitesinin değerlendirilmesi	45
3.2.2. Eritrosit süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin değerlendirilmesi	46
3.2.3. Eritrosit katalaz (CAT) aktivitesinin değerlendirilmesi	46
3.2.4. Eritrosit glutatyon peroksidaz aktivitesinin değerlendirilmesi	47
3.2.5. Plazma nitrik Oksit (NO) aktivitesinin değerlendirilmesi	48
4.TARTIŞMA	50
5. KAYNAKLAR	57
6. ÖZGEÇMİŞ	69

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Serbest radikal türleri	9
Tablo 2. Nitrik oksitin biyolojik etkileri	15
Tablo 3. Antioksidanların sınıflandırılması	19
Tablo 4. Preoperatif ve operatif karakteristikler	38
Tablo 5. Grupların hemodinamik verileri	39
Tablo 6. Grupların malondialdehit (MDA) değerleri	45
Tablo 7. Grupların süperoksit dismutaz (SOD) değerleri	46
Tablo 8. Grupların katalaz (CAT) değerleri	47
Tablo 9. Grupların glutatyon peroksidaz (GSH-Px) değerleri	48
Tablo 10. Grupların nitrik oksit (NO) değerleri	49

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Ksantin oksidaz enzimi ile oksidan maddelerin üretilmesi	4
Şekil 2. İskemi-reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi	7
Şekil 3. Amiodaronun kimyasal yapısı	27
Şekil 4. Grupların ortalama arteriyel basınç (MAP) değerleri	40
Şekil 5. Grupların ortalama kalp hızı (HR) değerleri	41
Şekil 6. Grupların santral venöz basınç (CVP) değerleri	41
Şekil 7. Grupların ortalama pulmoner arter basınç (MPAP) değerleri	42
Şekil 8. Grupların ortalama pulmoner kapiller wedge basınç (PCWP) değerleri	43
Şekil 9. Grupların kardiyak output (CO) değerleri	44
Şekil 10. Grupların kardiyak indeks (CI) değerleri	44
Şekil 11. Grupların malondialdehit (MDA) düzeyleri	45
Şekil 12. Grupların süperoksit dismutaz(SOD) düzeyleri	46
Şekil 13. Grupların katalaz (CAT) düzeyleri	47
Şekil 14. Grupların glutatyon peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri	48
Şekil 15. Grupların nitrik oksit (NO) düzeyleri	49

KISALTMALAR LİSTESİ

$^1\text{O}_2$	: Singlet oksijen
ACT	: Activated clotting time
AF	: Atrial fibrilasyon
ALT	: Alanin aminotransferaz
AMP	: Adenozin mono fosfat
APD	: Aksiyon potansiyel süresi
AST	: Aspartat aminotransferaz
ATP	: Adenozin trifosfat
C_{3a}	: Kompleman 3a
Ca	: Kalsiyum
CABG	: Koroner arter bypass greft
CAT	: Katalaz
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
CPB	: Kardiyo-pulmoner bypass
Cu	: Bakır
CVP	: Santral venöz basınç
DLCO	: Karbonmonoksit difüzyon kapasitesi
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DTNB	: Ditiyobisnitrobenzoik asit
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
EPR	: Elektron paramanyetik rezonans
GİK	: Glukoz-insülin-potasyum
GSSG	: Okside glutatyon
GSH	: Glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
GR	: Glutatyon redüktaz
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HO₂	: Peroksil radikali
HOCl	: Hipokloröz asit
ICAM	: İntrasellüler adezyon molekül

IL-1	: İnterlökün 1
ICD	: İmplantable cardioverter defibrillatör
IL-6	: İnterlökün 6
İ/R	: İskemi-reperfüzyon
K	: Potasyum
KOAH	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LT-B4	: Lökotrien B4
MDA	: Malondialdehit
Na	: Sodyum
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADH	: Nikotinamid dinükleotid
NF-κB	: Nükleer transkripsiyon faktörleri
NNDA	: N-naftiletildiamin
NO	: Prostosiklin, nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentetaz
eNOS (NOS3)	: Endotelial nitrik oksit sentetaz
iNOS (NOS2)	: İndüklenebilen nitrik oksit sentetaz
nNOS (NOS1)	: Nöronal nitrik oksit sentetaz
O₂⁻	: Süperoksit anyonu
OH	: Hidroksil radikali
ONOO⁻	: Peroksinitrit anyonu
PAF	: Platelet aktive edici faktör
PECAM-1	: Platelet endotelial hücre adhezyon molekülü
PUFA	: Poliansatüre yağ asitleri
RO[•]	: Alkoksil radikali
ROO[•]	: Peroksil radikali
ROS	: Reaktif oksijen türleri
Se	: Selenyum
sGC	: Soluble guanilat siklaz
SH	: Sülfidril
SOD	: Süperoksit dismutaz

SPSS	: Statistical Programme Software System
ec-SOD	: Ekstrasellüler SOD
Cu, Zn-SOD	: Sitoplazmik SOD
Mn-SOD	: Mitokondriyal SOD
SR	: Serbest radikal
SOR	: Serbest oksijen radikali
T3	: Triiyodotironin
T4	: Tiroksin
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TBARS	: Tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri
TGF α	: Transforming büyüme faktörü alfa
TGF β	: Transforming büyüme faktörü beta
TNF-α	: Tümör Nekrotizan Faktör Alfa
VCAM-1	: Vasküler hücre adhezyon molekülü 1
VF	: Ventriküler fibrilasyon
VT	: Ventriküler taşikardi
VYA	: Vücut yüzey alanı
YB	: Yoğun bakım
Zn	: Çinko
XO	: Ksantin oksidaz

1. GİRİŞ

İskemik kalp hastalıkları, kalp damar sistemi ile ilgili mortalite sebepleri arasında ilk sıralarda yer alır. Gerek iskemi sırasında gerekse reperfüzyon sonrası iskemi reperfüzyon hasarı kaçınılmaz olarak ortaya çıkar (1, 2). Trombolizis, anjioplasti, stentleme yada koroner bypass cerrahisi gibi prosedürler ile iskemik bölgeye kan akımının sağlanmasıyla özellikle akut evrede yeni bir hasar meydana gelir. Reperfüzyon hasarı olarak bilinen bu olay iskemi sırasında oluşan hasardan daha şiddetlidir (3). İskemi reperfüzyon hasarı, aritmiler, mikrovasküler hasar, geçici mekanik disfonksiyon (myocardial stunning) ve hücre ölümüne kadar farklı klinik tablolarla ortaya çıkabilir (4). İskemik bölgeye tekrar oksijen sağlanmasıyla oluşan toksik maddelerden en önemlileri serbest radikalleridir (SR). SR'ler dış yörüngelerinde bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektron içeren yapılardır (5). Normal aerobik metabolizma koşullarında SR çok az miktarlarda meydana gelir ve vücut savunma sistemleri tarafından yok edilirler. İskemi sonrası reperfüzyon safhasında oluşan SR düzeyi vücut savunma sistemlerini aştığında oksidatif stres ve hasar meydana gelir (2).

1.1. Kardiyak iskemi-reperfüzyon hasarı

Miyokardiyal iskemide dokuya giden kan akımının ani azalması nedeniyle bölgeye substratların gelmemesi, oluşan metabolitlerin temizlenmesinin aksaması ve oksidatif metabolik yolların inhibe olması sonucu miyokardiyal disfonksiyon ve hücre ölümüne neden olan bir dizi olaylar zinciri başlamış olur (6).

Myokardiyal iskeminin ilk dakikalarında glikolitik yol büyük ölçüde stimüle olur. Fakat daha sonra aşama aşama, doku asidozunun gelişmesi, NADH, sitrat ve laktat birikmesi sonucu glikolitik yol inhibe olur. Mevcut olan oksijen, oksidatif fosforilasyonu desteklemekte yetersiz kaldığından dokunun ihtiyacı olan ATP anaerobik metabolizma ile karşılanmaya çalışılır. Bu yolla üretilen ATP, dokunun ihtiyacını karşılayacak miktarda değildir. İskeminin devam etmesi ile birlikte doku ATP değeri düşer ve hücreyi hasara uğratacak bir seri olayın başlamasına yol açar. Bunların en önemlisi, hücrenin membran iyon dengesini koruma yeteneğini kaybetmesidir. Çünkü hücre içinde üretilen enerjinin % 70 gibi bir oranı membran

transport sistemlerinde, iyon kanallarında ve endoplazmik retikulum ile golgi cisminde membran için gerekli yapı maddelerinin sentezinde kullanılmaktadır (7).

İskemi sonrası reperfüzyonla birlikte iskemik dokuya iki yarar sağlanmış olur: Yeniden enerji kaynakları sağlanır ve toksik metabolitler ortamdan uzaklaştırılır (3). Bununla birlikte reperfüzyon, paradoks olarak bazı morfolojik değişikliklere, gen ekspresyonuna, miyokardiyum istirahat geriliminin artması (kontraktür) gibi hasarlara, adrenerjik yolların kaybına, ventriküler fibrilasyon gibi ciddi ventriküler aritmilere, hatta henüz canlı ve kurtarılabılır durumda olan bazı hücrelerin ölümüne de yol açabilir (8, 9). İskemik rat kalbinde, iskemi reperfüzyon hasarında histamin reseptörlerinin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, erken reperfüzyonun kardiyak hasarın azalmasında daha etkili olduğu görülmüştür (10).

Reperfüzyon hasarının nedeni hala spekülatif olmakla birlikte, iskemideki elektrofizyolojik anormallikler (özellikle, Ca^{+2} ve K^{+} için iyonik dengesizlik) ve reperfüzyonda aşırı serbest radikal üretimi, geçerli hipotezler olarak kabul edilmektedir (11). Bunlara paralel olarak koroner endotelial hücreler, lökositler, plateletler ve kardiyak miyositler de hasar oluşumunda önemli rol oynar. Reperfüzyon, nötrofil adezyonu ve agregasyonunu stimüle eder (12). Ayrıca meydana gelen endotel hücre disfonksiyonu, plateletler, pro-inflamatuar sitokinler ve lökosit aktivasyonu oksidanların üretimine neden olur (13).

Reperfüzyonda özellikle ilk iki saatte nekroz veya apoptozis ve vasküler yetmezlik gelişir. Damar endoteli İ/R ile geçirgen hale gelerek interstisyel ödeme sebep olur (14).

Reperfüzyonun ilk dakikalarında gelişen kardiyak hücrelerin güçlü şekilde kısılma ve kalınlaşması olan kontraktürün iki farklı nedeni vardır: 1. Ca^{+2} aşırı yüklenmesine (overload) bağlı kontraktil hücrelerin hızlı re-enerjizasyonundan kaynaklanıp, kontraktil sistemde kontrolsüz aktivasyon. 2. Re-enerjizasyon çok yavaş geliştiğinde meydana gelen Rigor tip kontraktürdür. Kontraktür geliştiğinde bütün kalbi etkiler. Bu durum “stone heart fenomeni” olarak adlandırılır. Burada hücre hasarının yayılmasına hücreler arasındaki gap-junctionlar izin vermektedir. Kontraktür major yapısal hasarın sebebi değildir. Ancak sitoiskeletal defektlere yol açıp myositlerde fragilitiyi artırır (14).

Reperfüzyonun başında mitokondriyal solunum hızı ve birkaç dakika içinde serbest oksijen radikalleri üretimi belirgin derecede artar. Oksijenden üretilen en önemli reaktif türler olan süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH^\cdot$), peroksinitrit anyonu ($ONOO^-$)'nun reperfüzyon esnasında arttığı gösterilmiştir (10). Bu radikaller hücre intrensik antioksidan sistemlerinin kapasitesini aşabilir ve membran hasarı, DNA yıkımı, proteaz aktivasyonu, lipid ve protein peroksidasyonu, takiben apoptozis ve nekrozla sonuçlanan hücre ölümüne sebep olabilirler (15).

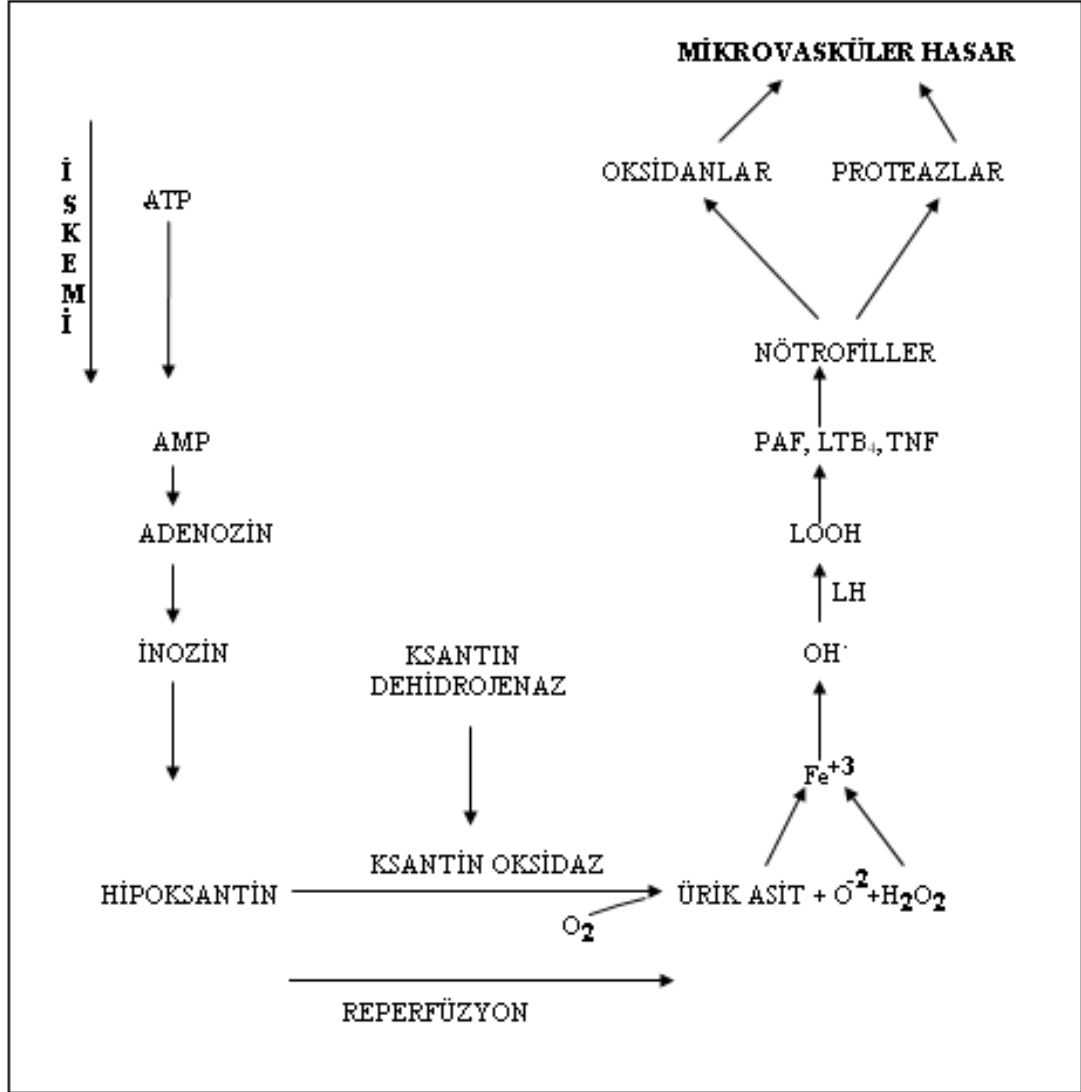
Mitokondriler, ksantin oksidaz enzimi, prostaglandin biyosentezi ve inflamatuvar cevapta rol oynayan fagositler (nötrofil ve monosit) serbest radikallerin kaynağı olarak bilinirler. Bakır, demir, mangan ve molipden gibi geçiş metalleri de reaksiyonları katalize ettikleri için serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar. Ksantin oksidaz sisteminde ksantin dehidrojenaz (XDH) ve ksantin oksidaz (XO), iki ayrı formdur. Hem XDH hem de XO hipoksantin'in ksantine, ksantin'in de ürik aside dönüşümünü katalize eder. Bunlardan XDH elektronları tercihen NAD'ye transfer ederken, XO akseptör olarak oksijeni tercih eder ve süperoksit oluşturur (şekil 1).

XDH insan ve tavşan kalplerinde bulunmamasına rağmen vasküler endotel hücrelerinde histokimyasal metodlarla tespit edilmiştir (10). İskemi sırasında ksantin dehidrojenaz enzimi bol miktarda bulunur. İskemi sonucu artan Ca^{+2} , XDH'ın XO'ya dönüşümüne neden olur (10).

Reperfüzyon sırasında çok miktarda oksijen aniden sisteme dahil olur. Bu da iskemi sırasında ATP'nin yıkımı sonucu oluşan hipoksantin ve ksantin gibi pürin metabolitlerinin çok süratli bir şekilde okside olmasına yol açar (16). Oksidasyon sonucu oluşan süperoksit, demir veya bakır varlığında Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonlarını kullanarak hidrojen peroksit, hidroksil ve perhidroksil gibi diğer oksijen metabolitlerinin de açığa çıkmasına neden olur (10, 17).

Reperfüzyonla birlikte miyokardiyal dokularda üretilen reaktif oksijen türleri (ROS); proteinler, membran lipitleri ve nükleik asitlerin oksidasyonuna yol açar ve membran iyon kanallarının K^+ , Ca^{+2} ve Na^+ 'a geçirgenliğini değiştirir. Sodyum iyonları hücre içine doğru, potasyum iyonları ise hücre içinden interstisyel alana doğru hareket eder. Reperfüzyon ile L-tipi Ca^{+2} kanalları aracılığıyla sarkolemal Ca^{+2}

girişinin artmasıyla ya da sekonder olarak sarkoplazmik retikulum- Ca^{+2} siklusundaki değişikliklerle ilişkili olarak hızla Ca^{+2} girişi olur. Ca^{+2} kolayca mitokondriye alınır.



Şekil 1. Ksantin oksidaz enzimi ile oksidan maddelerin üretilmesi

Mitokondriler Ca^{+2} ile aşırı yüklenince ATP üretemez ve sonunda parçalanır. Fizyolojik koşullarda hücre içinde biriken fazla Ca^{+2} dışarı atılarak ya da hücre içinde depolanarak tolere edilir. Ancak iskemi sırasında enerji eksikliği nedeniyle pompalar ve depolama mekanizmaları çalışmaz. Artan Ca^{+2} düzeyi, fosfolipazları ve proteazları aktive ederek radikal ve yağ asitleri oluşumunu artırıp hücreyi ölüme sürükleyebilirler (18). Fosfolipazların aktivasyonu serbest yağ asitlerinin ve

lizofosfolipidlerin salınmasına yol açarak, lipid peroksidasyonu sonucu hücre membranında hasar oluşturur (19). Proteazların aktivasyonu tiyol gruplarının oksidasyonuna sebep olarak hücre iskeletinin sindirimine ve enzim sistemlerinde değişikliklere yol açar (10).

Reperfüzyon başlangıcında meydana gelen olaylar, inflamatuvar cevabın en önemli komponentleri olan nötrofiller ve endotelyum arasında gerçekleşir ve “erken reperfüzyon hasarı” olarak ifade edilir (şekil 2). Lökositlerin doku içine migrasyonu için mutlaka endotel ile temas etmeleri gerekir. İnfiltrate olan aktif nötrofiller de salgıladıkları serbest oksijen radikalleri ve proteazlar tarafından hasarını artırır.

Nötrofillerin saldıkları maddelerle yol açtıkları hasarın yanısıra, aktif nötrofillerin damar içinde oluşturdukları hücre toplulukları (agregatlar) mikrovasküler tıkanmaya neden olurlar. Reperfüzyondan sonra meydana gelen serbest radikal üretimine aktive olmuş nötrofillerin katkıda bulunup bulunmaması, nötrofillerin iskemik dokuya birikme hızına bağlıdır.

Nötrofillerin dokuya gelebilmeleri için gerekli olan kemotaktik ajanlar arasında kompleman 3a (C3a) ve araşidonik asit ürünleri olan interlökin-1 (IL-1), lökotrien B4 (LT-B4), trombosit aktive edici faktör (PAF) vardır. Araşidonik asit metabolizmasında oluşan LT-B4, güçlü bir nötrofil çekici ajandır. Nötrofillerde süperoksit üretimini stimüle eder. Nötrofillerin damar duvarına yapışmasını, damar hassasiyetini ve kapiller permeabiliteyi artırır. Vazokonstriksiyon yapar. Doku ödemeine neden olur. Yine araşidonik asit metabolizmasında oluşan prostaglandinler (PG), plateletlerin fonksiyonunu modüle eder. Vazokonstriktör etki gösterir. Nötrofillerin hızlı bir şekilde fibrinojene yapışmasını tetikler (20). Klor iyonları varlığında, nötrofillerin fagositik vakuolünde myeloperoksidaz enziminin katalizi ile hidrojen peroksitten hipoklorik asit oluşur. Aktif lökositler, makrofajlarda ve mast hücrelerinde TNF- α sentezine de yol açar. TNF- α , lökositlerin adezyon ve degranülasyonuna neden olur. NADPH oksidazları, IL-1, IL-2, IL-6 sentezini ve PAF reseptörü sentezini uyarır. TNF- α ve IL-1 β gibi kemotaktik ajanların sekresyonu, iskeminin ilk dakikalarında olur ve dolaşımdaki polimorf nüveli lökositlerin mobilizasyonuna yol açarlar. Lökositler, nükleer transkripsiyon faktörlerinin (NF- κ B) aktivasyonuna yol açar. Lökositlerin ürettiği serbest radikallerle birleşen bu ajanlar, mast hücrelerinden selektin ve intrasellüler adezyon

molekül (ICAM) gibi adezyon moleküllerinin mobilizasyonuna neden olan inflamatuvar mediyatörlerin salınımını uyarır (21).

Yapılan son çalışmalarda; nötrofillerin aktivasyon ve dokuya infiltrasyon derecesi ile reperfüze dokudaki nekroz ve apoptozis derecesi arasında bir korelasyon olduğu bulunmuştur (22). IL-1 β , nötrofillerin kemotaksisini uyarırken, oksijen radikalleri ile birlikte apoptozise neden olabilir. Oksidatif stres, membran proteinlerinin ve lipidlerinin oksidasyonu ile Ca⁺² overloadının aşırı olması ve uzun sürmesi yanında diğer bazı metabolik değişiklikler apoptozisi tetikleyebilir (23).

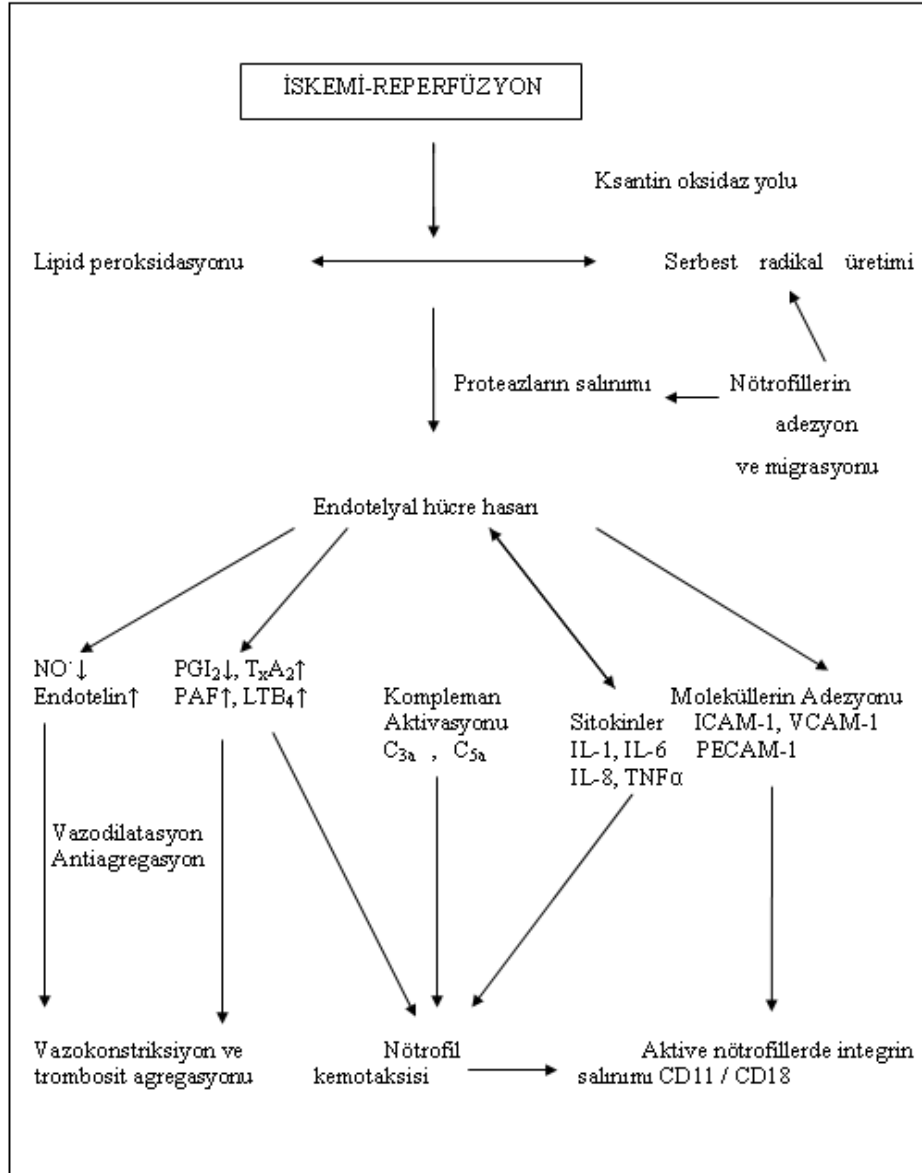
Hem iskemi hemde reperfüzyonu takiben zarar gören endotelyumda nitrik oksit (NO[•]) sentezi belirgin derecede azalır. NO[•] gibi inhibitör etkisi çok kuvvetli bir ajanın eksikliği nötrofil aktivasyonunun kolaylaşmasına ve doku hasarının artmasına yol açar (24). Ancak düşük konsantrasyonlardaki NO[•] kardiyak myositlerin fonksiyonunu artırır. İ/R'u takiben platelet agregasyonunu ve nötrofil-endotelyum etkileşimlerini azaltabilir.

Hasarın subakut fazı esnasında, proenflamatuvar sinyal iletim kaskadının akut faz aktivasyonu ile üretilen sitokinler, nötrofillerin tutulmasına NO[•] kaskadının katılımıyla hasarlı dokunun hasarının daha da artmasına sebep olur. Ayrıca subakut faz esnasında nötrofillerden sekrete edilen proinflamatuvar sitokinler, reseptör aracılı yollar ile hasarlı dokuda hücre içi ROS üretimini artırarak organ hasarını derinleştirirler.

Reperfüzyonun geç fazında üretilen NO[•] ve peroksinitritin reperfüzyonun erken fazına oranla çok daha fazla olduğu ve bu durumun uyarılabilir NOS (iNOS) up-regülasyonu ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Yüksek konsantrasyondaki NO[•]'in kardiyak miyosit fonksiyonunu deprese etmesi, İ/R'u takiben inflamatuvar süreçleri uyarması, mitokondriyal solunumu bozması, nekroza ve apoptozise neden olması gibi birçok zararlı etkisi vardır. NO[•] düzeyindeki bu gecikmiş artış, doku hasarının daha da artmasına neden olur (25).

Reaktif oksijen ürünleriyle reaksiyona giren endojen antioksidanlar (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon redüktaz (GSH-Rd)) ve inflamatuvar hücrelerin serbest radikal üretimini engelleyen ekzojen ajanlar (ibuprofen ve allopurinol gibi) doku hasarını azaltabilirler (26). SOD, süperoksit anyonunu daha az toksik olan H₂O₂ ve O₂'e çevirir. H₂O₂

sonradan GSH-Px ve CAT ile H_2O ve O_2 'e indirgenir. Burada GSH-Px'in H_2O_2 temizleyici aktivitesi CAT'dan çok daha yüksektir. GSH-Px, lipid ve lipid olmayan hidroperoksitlerin detoksifikasyonunu sağlar. H_2O_2 'in GSH-Px ile detoksifikasyonu redükte glutatyon (GSH) varlığında gerçekleşir. Bu reaksiyon sonucunda oluşan okside glutatyon (GSSG), NADPH gerektiren reaksiyon ve glutatyon redüktaz (GSH-Rd) enzimi aracılığı ile GSH'a dönüşerek tekrar kullanılır.



Şekil 2. İskemi-reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi (NO:Nitrik oksit, PGI_2 : Prostasiklin, PAF: Platelet aktivatör faktör, LTB_4 : Lökotrien B₄, $TNF\alpha$: Tümör nekroz faktör alfa, ICAM-1: İntrasellüler adhezyon molekülü 1, VCAM-1: Vasküler hücre adhezyon molekülü, PECAM-1: Platelet endotelial hücre adhezyon molekülü-1)

İskemi süresince NADPH azalır ve reperfüzyon sırasında NADPH düzeyi iskemi öncesi düzeye ulaşamaz. Bundan dolayı düşük NADPH ve yüksek GSSG konsantrasyonları, reperfüzyon sırasında GSH-Px'in antioksidan aktivitesinin azalmasına neden olur. Pentoz monofosfat yolu NADPH sağlayarak redükte glutatyon oluşumuna ve lipid peroksidlerin detoksifikasyonunda rol alan GSH-Px' a yardım eder (10, 27).

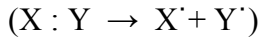
A, C, E vitamini ve GSH-Px'in kofaktörü olan selenyumun da hücredeki antioksidan mekanizmalarda rolü vardır. Vitamin E lipit peroksidasyonunda zincir reaksiyonu kırarak güçlü peroksil radikal temizleyicisi olarak etki gösterir. Bundan başka vitamin E, Sethi ve arkadaşlarının miyokard İ/R çalışmasında infarkt alanını ve aritmileri anlamlı derecede azaltmış, sol ventrikül fonksiyonlarındaki depresyonu önlemiş, malondialdehit (MDA) ve konjuge dien formasyonundaki artışı inhibe etmiştir (10). Vit C ve glutatyon gibi bazı antioksidanlar reperfüzyonun 40. dakikasında azalarak okside formları artar. Antioksidanlar İ/R'da adreno reseptör ilişkili sinyal transdüksiyon mekanizmasında değişikliklere karşı koruyucudur. CAT yokluğunda SOD bu değişiklikleri önlememektedir (10, 27).

1.2. Serbest radikaller

Stabil yapıya sahip moleküler türevler, dış orbitallerinde çiftler şeklinde düzenlenmiş elektron bulundurlar. Bu çiftlerdeki elektronlardan her biri, molekülü stabil hale getiren zıt yörüngeye sahiptir.

Serbest radikaller, atomik veya moleküler yapılarında eşlenmemiş elektron içeren ve bu nedenle reaktif özellik taşıyan moleküllerdir. Bu ortaklanmamış elektronlar molekülü çok kararsız hale sokar. Serbest radikaller dış orbitaldeki elektronun ortaklanmasını sağlamak ve daha kararlı bir molekül haline gelmek için diğer moleküllerle reaksiyona girebilecek şekilde reaktif bir yapı gösterir. Çiftlenmemiş elektron, molekül formülünün yanına ilave edilen bir nokta (·) ile gösterilir (28, 29). Elektriksel olarak (+) yüklü, (-) yüklü veya nötr olabilen serbest radikaller 3 yolla oluşabilir:

1- Normal bir moleküldeki kovalent bağın, her bir fragmanın eşleşmiş elektrondan bir tanesini alması şeklindeki homolitik yarılmaları ile



2- Normal bir molekülden tek bir elektron kaybı ile ($X : Y \rightarrow X^{\cdot-} + Y^{\cdot+}$)

3- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile ($A + e^{-} \rightarrow A^{\cdot-}$)

Birçok molekül elektron kazanarak veya kaybederek teorik olarak serbest radikal haline gelebilirken, sınırlı bir kısmı patolojik olaylarda yer alır. Bu radikallerin önemi, sahip oldukları redoks potansiyeline, hücrel moleküllerle reaksiyon verme özelliklerine ve kimyasal reaksiyonlar sonucunda daha reaktif serbest radikal üretme kapasitelerine bağlıdır (30).

1.2.1. Serbest radikal türleri

Serbest radikaller, oksijen kaynaklı ve oksijen kaynaklı olmayan serbest radikaller ile gerçekte radikal olmayan ancak serbest radikal oluşturma potansiyeli olan zararlı oksijen türleri olarak ayrılabilirler (Tablo 1) (31).

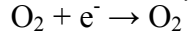
Tablo 1. Serbest radikal türleri

Oksijen kaynaklı radikaller		Oksijen kaynaklı olmayan radikaller
Potansiyel oksijen radikalleri	Reaktif Oksijen türevleri	
Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)	Singlet oksijen (1O_2)	Karbon kaynaklı radikaller Triklor metil (CCL)
Hidroksil radikali ($HO^{\cdot}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)	Sülfür kaynaklı radikaller Thiyl ($RS^{\cdot}$)
Peroksil radikali ($ROO^{\cdot}$)	Peroksinitrit ($OONO^{\cdot}$)	Nitrojen kaynaklı radikaller Fenildiazin ($C_6H_5N:N$)
Nitrik oksit ($NO^{\cdot}$)		Geçiş metal kompleksleri Fe^{+3}/Fe^{+2} , Cu^{+3}/Cu^{+2}
Alkoksil radikali ($RO^{\cdot}$)		

1.2.1.1. Süperoksit radikali (O₂[•])

Biyolojik sistemlerde en fazla oksijen taşıyan primer serbest radikal, kendisinin protonlanmış şekli olan perhidroksi radikali (HO₂[•]) durumundaki süperoksit radikali (O₂[•])'dir.

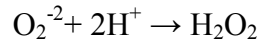
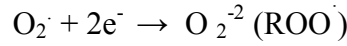
Transfer yoluyla tek bir elektronun moleküler oksijene bağlanması ile oluşur.



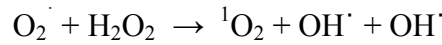
Süperoksit anyonu yüklü olduğundan membranlardan geçişi için anyon kanallarına gereksinim duyar. Bu kanallar yalnızca eritrosit membranlarında gösterilmiştir (32).

Serbest radikal olmasına rağmen hasar oluşturuca özelliği yoktur. Asıl önemi; hidrojen peroksidin kaynağı olması ve geçiş metal iyonlarının redükleyicisi olmasıdır (33).

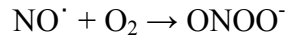
Süperoksit radikali bir elektron alarak peroksil radikali (ROO[•])'ni meydana getirir. Bu da iki proton alarak hidrojen peroksidi oluşturur (34).



Süperoksit radikali (O₂[•]), hidrojen peroksit ile tepkimeye girerek hidroksil radikali (OH[•]) ve singlet oksijen (¹O₂)'i meydana getirebilir (34).



Nitrik oksit (NO[•]) ile reaksiyona girerek peroksinitrit (ONOO[•])'i oluşturur (35).



Düşük pH'da perhidroksil radikali (HO₂[•])'ne protonlanır. Perhidroksil radikali daha reaktiftir. Çünkü daha polardır ve bu yüzden membranlardan kolayca geçer (33).

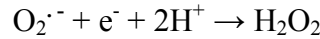
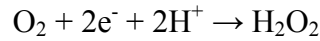
Süperoksit radikali oksijenin neden olduğu toksisitede önemli bir rol oynar. Burada tiyol grupları ile reaksiyona girip, redükte glutatyon (GSH) tüketilmesine sebep olarak hücreyi ileri bir oksidatif strese sokar. Ayrıca enzim ve diğer hücrese proteinler üzerindeki tiyol grupları ile reaksiyon vererek onları inaktive eder (33).

Oluşumuna sebep olduğu radikaller kendisinden çok daha reaktif ve toksik olduğundan süperoksit radikali ortaya çıktığı anda ortamdan uzaklaştırılmalıdır. Bu koruma organizmada süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından sağlanır. SOD'un katalize ettiği reaksiyon ile iki adet süperoksit anyonundan biri oksitlenirken, diğeri indirgenir. “Dismutasyon tepkimesi” denen bu reaksiyon sonucunda hidrojen peroksit ve oksijen meydana gelir (34).

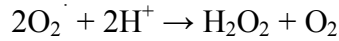


1.2.1.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması veya O₂· nin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek H₂O₂'yi meydana getirir (36).



Ancak biyolojik sistemlerde H₂O₂'nin asıl üretimi O₂· nin dismutasyonu ile olmaktadır. Bu dismutasyon spontan olarak veya Süperoksit Dismutaz (SOD) enzimi aracılığıyla katalizle olabilir:

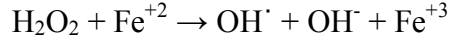


Hidrojen peroksit çiftlenmemiş elektrona sahip olmadığından gerçekte serbest radikal değildir. Ancak membranlardan kolayca geçerek direkt olarak oksidatif hasar oluşturabilir. Fakat hidrojen peroksit zayıf oksidan bir ajan olduğundan yaptığı hasar protein tiyollerini oksitleme ve DNA'da zincir kırılmaları şeklindedir (33).

Hidrojen peroksit süperoksit radikali ile reaksiyona girerek bilinen en etkin serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali (OH·)' ni oluşturur. Bu reaksiyona “Haber-Weiss reaksiyonu” adı verilir (37).



Bu reaksiyon katalizörsüz oluşabileceği gibi demir katalizörlüğünde daha hızlı bir şekilde de gelişebilir. Burada Fe⁺³ süperoksit tarafından Fe⁺² 'ye indirgenir. Sonra “Fenton reaksiyonu” ile hidrojen peroksit ve Fe⁺² 'den hidroksil radikali üretilir (36).



Hidrojen peroksit penetrasyonla hücre içine girer ve ATP seviyesini düşürerek hücre membranlarını, kalsiyum depolarını, mitokondri gibi hedef organları tahrip eder (38).

Hidrojen peroksit düşük konsantrasyonlarda trombosit agregasyonunu inhibe ederken, yüksek konsantrasyonlarda uyarıcı etki gösterir (39).

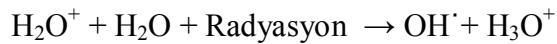
Mitokondriyal süperoksit ve hidrojen peroksit üretimi SOD enzimi ile minimal düzeyde tutulur ve sitoplazmaya geçişi engellenir (F9). Hidrojen peroksinin oluşturduğu hasar katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleri ile önlenmeye çalışılır (39).

1.2.1.3. Hidroksil radikali (OH[·])

Hidroksil radikali; hemen hemen bütün moleküllerle reaksiyona girebilen çok reaktif bir yapı olup, oksidatif strese en güçlü oksidan olarak bilinmektedir. En önemli etkileri lipidler, proteinler ve nükleik asitler (DNA, RNA ve sitokromlar) üzerinedir. Lipid peroksidasyonuna neden olan en önemli radikaldir. Koroner kalp hastalığı ve inme gibi hastalıkların patogenezinde önemli rol oynar (33, 39).

Üç yol ile oluşur.

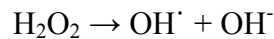
1. Radyasyon-su etkileşimi sonucu



2. Hidrojen peroksitten Haber-Weiss reaksiyonu veya Fenton reaksiyonu ile



3. Hidrojen peroksinin fotoliziyle

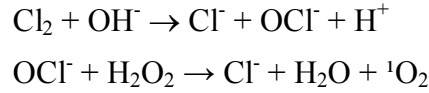


Hidroksil radikalleri oluştukları anda hücrede değişik radikaller meydana getirirler. Bunlarda yakınında bulunan biyolojik moleküllerle reaksiyon vererek oksidatif hasarı şiddetlendirip, ölüme doğru gidişi hızlandırırlar (33, 39).

1.2.1.4. Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)

Yapısında eşleşmemiş elektron bulunmaması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türevleri arasında yer alan Singlet oksijen, serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır.

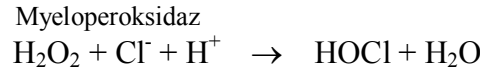
Radyasyon sonucu oluşabileceği gibi *invivo* olarak sitokrom P-450, prostaglandin, endoperoksit sentetaz ve myeloperoksidaz reaksiyonları ile enzimatik olarak da oluşabilmektedir.



Singlet oksijenler organizmadaki proteinler ve bazı aminoasitlerle (triptofan, metionin, sistein veya histidin gibi) reaksiyona girerek önemli biyolojik hasarlar oluşturabilirler (33).

1.2.1.5. Hipokloröz asit (HOCl)

Vücutta aktive olmuş fagositlerden nötrofiller, monositler, eosinofiller ve bütün makrofajlar O_2^- üretirler. Fagosit sitoplazmasında hem içeren bir enzim olan myeloperoksidaz enzimi (MPO), O_2^- 'nin dismutasyonu ile meydana gelen H_2O_2 molekülünü Cl^- iyonu ile birleştirerek HOCl 'e dönüştürür. Gerçek radikal değildir.



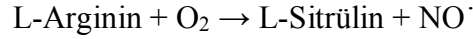
1.2.1.6. Peroksinitrit (OONO^-)

Peroksinitrit bir serbest radikal olmamasına rağmen fenolik içeriklere (özellikle tirozin radikallerine) dönüşerek, esansiyel protein ve enzimlerin aktivitelerinde değişikliğe neden olur. Ayrıca lipid peroksidasyonu ve DNA fragmentasyonu yaparak hücrel hasara sebep olur.

Peroksinitrit başlıca endotelde nitrik oksit ve süperoksit anyonunun hızlı reaksiyonu ile oluşur (10).

1.2.1.7. Nitrik oksit ($\text{NO}^\cdot$)

Nitrik oksit nitrik oksit sentetaz (NOS) aracılığı ile yarı esansiyel bir aminoasit olan L-arjinden terminal guanidin grubunun $\text{NO}^\cdot$ ya çevrilmesi ile sentezlenen aktif bir bileşiktir (40).



Hızla plazmaya geçerek iki tür değişime uğrar. Ya eritrosit içine girerek hemoglobinin okside formu ile birleşip methemoglobin, nitrit ve nitrozotiollerini oluşturur. Ya da okside olmayan nitrik oksit ile birleşir ve nitrata dönüşür. Nitritler ve nitratlar, nitrik oksit dönüşümünün son ürünleri olup vücuttaki nitrik oksit üretim düzeyinin göstergesidir (41).

Nitrik oksit sentetazın üç farklı izoenzimi olup bunlar; nöronal (nNOS NOS I), indüklenabilen (iNOS NOS II), endotelial (eNOS NOS III) olarak adlandırılır. nNOS ve eNOS' a yapısal NOS (cNOS) da denir. Yapısal nitrik oksit sentetaz sürekli olarak oluşturulan bir enzim olup damar direnci ile sinir iletimi gibi fonksiyonlar için üretilir. Aktivasyonu Ca^{+2} kalmoduline bağımlıdır (42). Hücre içindeki kalsiyum düzeylerinin yükselmesi kalmodulinin cNOS'a bağlanmasını uyarır ve anında pikomol düzeylerinde nitrik oksit sentezlenir. Sentezlenen nitrik oksit, esas olarak hücreler arası ve hücre içi iletişimin fizyolojik aracısıdır (43).

İndüklenabilen nitrik oksit sentetaz transkripsiyonel indüksiyon yolu ile aktive olur (G4). Endotel hücreleri, damar düz kas hücreleri, makrofaj, nötrofil, kalp kası ve endokard hücrelerinde bulunup, nanomol düzeylerinde nitrik oksit üretir (43). cNOS aktivasyonu kalsiyum, eksitator aminoasitler, elektriksel uyarı, asetilkolin, bradikinin, trombin, ADP, lipopolisakkarid, lökotrienler, trombosit aktive edici faktör (PAF), tromboksan A_2 (TxA_2) ve endotelin tarafından olur (44). iNOS ise esas olarak endotoksin ve sitokinler (IL-I, TNF, IF- γ) tarafından aktive edilir (43).

Nitrik oksit moleküler düzeyde solüble guanilat siklaz (sGC) ve ADP-ribozil transferaz enzimlerini aktifler. Guanilat siklaz da cGMP üretimine yol açar. Bu da protein kinaz G'yi uyarak vazodilatasyona sebep olur

Makrofajlarda nitrik oksit tümör hücresi ve mikroorganizmalardaki Fe-S taşıyan enzimleri nitrolayarak antimikrobiyal ve antitümöral sitotoksik etki gösterir. Ribonükleotid redüktazı inhibe ederek tümör hücresinin DNA sentezini engeller. Nitrik oksitin ferritinle reaksiyonu sonucu oluşan serbest demir, lipid peroksidasyonuna neden olabilir. Nitrik oksit süperoksid anyon radikali ile etkileşerek peroksinitritten nitrojen dioksit ve hidroksil radikalini oluşturur (45).

Tablo 2. Nitrik oksitin biyolojik etkileri

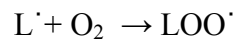
-
- Vasküler düz kas relaksasyonu ile vazodilatasyon
 - Nörotransmitter (santral sinir sisteminde ve periferik sinirlerde)
 - Antiproliferatif etki (endotel hücresi ve vasküler düz kas hücresinde)
 - Trombosit adhezyon ve agregasyonunda inhibisyon, tPA artışı, fibrinoliz
 - Düşük konsantrasyonlarda eritrosit deformabilitesinde artış
 - İmmünomodülatör etki
 - Lökosit adhezyonunun inhibisyonu (NADPH oksidaz inhibisyonu)
 - Makrofaj aracılı nonspesifik immun cevap
 - Antimikrobiyal etki (sitostatik)
 - Antitümör etki (sitostatik)
-

1.2.2. Serbest radikallerin etkileri

Organizma fizyolojisinde birçok reaksiyonda rol oynayan serbest radikallerin aşırı üretilmesi veya antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı durumlarda; doku hasarına neden olan oksidatif strese bağlı olarak, özellikle serbest radikallerin hedef hücrel makromoleküller olan membran lipidleri, DNA, karbonhidratlar, proteinler ile reaksiyona girmeleri sonucu hücre hasarı hatta ölümü meydana gelebilir.

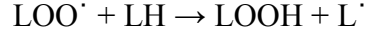
1.2.2.1. Serbest radikaller ile oluşan lipid peroksidasyonu

Serbest radikal hasarına en hassas biyomoleküller membran lipidleridir. Lipid peroksidasyonu; membran yapısını teşkil eden fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısındaki poliansature yağ asitlerinin (PUFA), reaktif oksijen türevleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan, pentan gibi sekonder ürünlere yıkılma reaksiyonudur (46). Başlangıçta, hidroksil ve hidroperoksil radikalleri PUFA zincirindeki metilen grubundan hidrojen atomunu çıkararak lipid radikali oluşumuna yol açar. Oluşan karbon merkezli radikal hızla moleküler O₂ ile reaksiyona girer ve lipid peroksil radikalini oluşturur (46).



(L[•]: lipid alkil radikali, LOO[•]: lipid peroksil radikali)

Oluşan lipid peroksil radikali hemen başka bir yağ asitinden hidrojen atomu çıkararak lipid alkil radikali haline çevirir. Kendisi de lipid hidroperoksite indirgenir (47).



(LH: doymamış yağ asiti, LOOH: lipid hidroperoksit)

Lipid hidroperoksitler ortamdaki geçiş metal iyonlarının (Fe^{+2}) varlığında kolayca tekrar radikal haline dönüşürler. Bu şekilde gelişen zincir reaksiyonları sonucu yağ asitlerinin kaybı membran hasarına yol açmaktadır (47).

Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehyitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olmaktadır. Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması nedeniyle reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerle meydana gelir. Membran permeabilitesi ve mikrovizkozitesi önemli şekilde etkilenir.

Demir ve bakır iyonları yada bu iyonların fosfat esterleriyle oluşturduğu basit şelatlar (Fe^{+2} -ADP) ile hem, hemoglobin ve myoglobini de içeren bazı demir proteinleri lipid hidroperoksitlerin yapısını bozarak peroksidasyonu sonlandırmaktadır. Ayrıca C ve E vitamini gibi zincir reaksiyonlarını durduran antioksidanların varlığı da peroksidasyonun sonlandırılmasında önemlidir (46).

Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Tiyobarbitürik asitle ölçülebilen MDA seviyesi lipid peroksidasyonunun şiddetinin saptanmasında kullanılır (48). MDA, membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olarak iç membranın bazı özelliklerini değiştirir. Ayrıca membranlardan geçerek DNA'nın nitrojen bağları ile reaksiyona girebilir. MDA bu özelliklerinden dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir (49).

1.2.2.2. Serbest radikaller ile oluşan protein hasarı

Radikallerle ilgili protein hasarı elektron sızıntısı, metal iyon bağımlı reaksiyonlar, lipid ve şekerlerin otooksidasyonu ile başlatılabilir. Proteinlerin serbest radikal hasarından etkilenme dereceleri, aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi

yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikal hasarına açıktırlar (36). Bu aminoasitlerin oksidasyonu proteinlerin parçalanmasına, çapraz bağ oluşumuna, agregasyona ve proteinlerin proteolitik parçalanmaya yatkın hale gelmesine neden olmaktadır.

1.2.2.3. Serbest radikaller ile oluşan karbonhidrat hasarı

Fizyolojik pH ve ısıda, glukoz ve mannoz gibi monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzalaldehitler oluşabilir. Okzalaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanarak antimitotik etki gösterip kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (36, 50).

1.2.2.4. Serbest radikaller ile oluşan nükleik asit ve DNA hasarı

Serbest radikaller DNA yapısında mutasyon, karsinogenez ve hücre ölümüne yol açabilirler. Serbest radikaller etkilerini DNA'nın temel taşı olan nükleotid yapısındaki purin ve pirimidin bazları üzerinde gösterirler. Sitotoksosite büyük oranda nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine yada DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. Radikaller aracılığı ile özellikle guanin bazının hidroksilasyonu sonucu DNA molekülünün yapısı değişerek mutasyonlar ortaya çıkmaktadır. Hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girerek değişikliklere yol açar. Ayrıca aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan H₂O₂ de membranlardan kolayca geçer ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir (36).

1.3. Antioksidan savunma sistemleri

Normal fizyolojik koşullarda hücreler, oluşan serbest radikal ürünleri ve peroksitler gibi moleküllerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur.

Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler (36, 51):

1. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi

- a) Oksijeni uzaklaştırıcı veya konsantrasyonunu azaltıcı etki,
- b) Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırıcı etki,
- c) Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki

2. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi:

- a) Toplayıcı (scavenging) etki: Reaktif oksijen türevlerini etkileyerek onları tutma veya çok daha az reaktif başka bir moleküle çevirme. (örneğin; antioksidan enzimler)
- b) Bastırıcı (quencher) etki: Reaktif oksijen türevleri ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivitelerini azaltmak veya inaktif hale dönüştürme (örneğin; flavinoidler, vitaminler)
- c) Zincir kırıcı (chain breaking) etki: Reaktif oksijen türevlerini ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki. (örneğin; seruloplazmin, hemoglobin, mineraller)
- d) Onarıcı (repair) etki:

Antioksidanlar; endojen ve ekzojen kaynaklı olmak üzere başlıca iki grupta sınıflandırılabilir (Tablo 3).

1.3.1.Enzimatik antioksidanlar

1.3.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, süperoksit anyonunun hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürülmesini katalizleyerek organizmayı toksik reaktif oksijen metabolitlerine karşı koruyan bir metalloenzimdir.



SOD enziminin kofaktör olarak içerdiği metal iyonuna göre; ekstrasellüler SOD (ecSOD), sitoplazmik SOD (Cu, Zn-SOD) ve mitokondriyal SOD (Mn-SOD) olmak üzere üç izoformu mevcuttur. Sitoplazmik SOD Cu ve Zn atomu içerip, en sık bulunan formdur. Endotel hücre yüzeyinde de bulunur. Siyanid ile inhibe olurlar. Mitokondriyal SOD mangan atomu içerip, mitokondride bulunurken, ekstrasellüler SOD demir içerip, bazı bakterilerde bulunurlar (10, 52).

Serbest radikallere karşı organizmada ilk savunma SOD enzimiyle gerçekleşir. Organizmada oksidan stresin arttığı durumlarda SOD aktivitesi artarak koruyucu etkinliği sürdürmeye çalışır. Özellikle diğer enzimatik radikal temizleyicilerin aktivitelerinde azalma söz konusu olduğunda SOD aktivitesinde artma gösterilmiştir (53).

Tablo 3. Antioksidanların sınıflandırılması

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR		
1.Enzimatik Antioksidanlar	2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	
	I. Makromoleküller	II. Mikromoleküller
-Süperoksit dismutaz (SOD)	-Seruloplazmin	-Vitamin E, C, A
-Katalaz (CAT)	-Transferin	-Glukoz, Ürik asit
-Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)	-Hemoglobin	-Albumin, Bilirubin
-Glutasyon redüktaz (GR)	-Ferritin	-Melatonin, Ubiquinon
-Glutasyon-S-transferaz (GST)	-Myoglobin	-Selenyum, Lipoik asit
-Mitokondrial sitokrom oksidaz	-Tiyol içerenler	
-Hidroperoksidaz	Glutasyon	
	Metiyonin	
EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR		
-Ksantin oksidaz inhibitörleri	-Trolox-C	
Allopurinol	-Endojen antioksidan aktiviteyi artıran mad.	
Oksipurinol	Ebselen, Asetil sistein	
Folik asit	-Non-enzimatik serbest radikal toplayıcıları	
-NADPH oksidaz inhibitörleri	Mannitol, DMSO	
Adenozin	-Demir şelatörleri	
Lokal anestezikler	Desferroksamin	
Kalsiyum kanal blokerleri	Dimetiltiyöre	
Non-steroid antiinflamatuvarlar	-Sitokinler	
-Nötrofil adezyon inhibitörleri	TNF, İnterlökin-1	
-Soya fasülyesi inhibitörleri	-Barbitüratlar	
-Rekombinant human-SOD	-Flavonoidler	

1.3.1.2. Glutasyon redüktaz (GR)

Redükte glutasyonun (GSH) yüksek konsantrasyonları ve okside glutasyonun (GSSG) düşük düzeyleri organizmanın yaşamı için gereklidir. GSH, oksidazlar tarafından protein sülfidrillerine tercih edilen bir substrat olup, protein sülfidril oksidasyonunu önlerler. Yüksek GSSG düzeyleri protein sülfidrilleriyle reaksiyona girer ve proteinleri inaktive eden karışık glutasyon-protein sülfidrillerini oluşturur. Antioksidan savunmanın etkinliğini sürdürebilmesi için oksitlenmiş glutasyonun tekrar indirgenmiş şekle dönüşmesi gerekir. Glutasyon redüktaz redükte nikotinamid

adenin dinükleotid fosfat (NADPH)varlığında indirgenme reaksiyonunu katalizler (50).

GSH Redüktaz

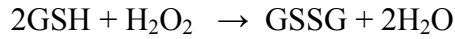


Oluşan okside nikotinamid adenin dinükleotid fosfatın (NADP⁺) tekrar NADPH'a dönüşebilmesi için glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G-6-PD) enzimine gereksinim vardır (54).

1.3.1.3. Glutasyon peroksidaz (GSH -Px)

Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit ve büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerinin indirgenmesinden sorumludur. Selenyum içerdiğinden metalloenzim grubunda değerlendirilir. Hidrojen peroksitin (H₂O₂) detoksifikasyonundan esas olarak glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzimi sorumludur. Bunu redükte glutasyon varlığında gerçekleştirir. Selenyum bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki farklı formu vardır. Selenyum bağımlı olan formu H₂O₂ ve organik hidroperoksitleri (ROOH) metabolize ettiği halde, selenyum bağımsız olan formu yalnızca lipid hidroperoksitlerini metabolize edebilmektedir (55).

GSH-Px



GSH-Px



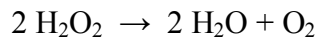
GSH-Px eritrositlerde oksidan sisteme karşı en etkili antioksidandır (36).

GSH-Px aynı zamanda prostaglandin sentezinde ve prostasiklin oluşumunun regülasyonunda da fonksiyon görmektedir (56).

1.3.1.4. Katalaz (CAT)

Katalaz, glukoprotein yapısında olan ve 4 “hem” grubu bulunan bir hemoproteindir. H₂O₂'in konsantrasyonunun aşırı arttığı ortamlarda aktivite gösterip H₂O₂'i direkt olarak suya çevirir (57).

CAT



Katalaz, sitokrom oksidaz içeren bütün hücrelerde bulunur. Anaerobik hücrelerin çoğunda bulunmazken radyasyona dirençli çoğu bakteri türlerinde de vardır. En yüksek aktivite karaciğer ve böbrekte, en az aktivite ise destek dokusunda

saptanmıştır. Eritrositlerde de yoğun olarak bulunmakla birlikte beyin, kalp ve iskelet kasında az miktarda bulunur (57).

Düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında diğer enzimler (GSH-Px gibi) devreye girer. Katalaz, GSH-Px ile aynı etkiyi gösterir. Fakat hücre içi dağılımı açısından farklılık söz konusu olup, GSH-Px esas olarak mitokondri ve sitozolde aktif iken katalaz peroksizomlarda ve membrana bağlı olarak bulunup, mitokondriyal matrikste aktiftir (36).

1.3.1.5. Mitokondriyal sitokrom oksidaz

Mitokondrilerde solunum zincirinin son basamağında yer alan ve bakır içeren bir enzimdir. Solunum zincirindeki görevini sürdürürken, süperoksit radikalının suya dönüşümünü de sağlar. Ancak süperoksit radikallerinin oluşumu çoğu kez enzimin kapasitesini aşar, bu durumda diğer enzimler devreye girerek, süperoksit radikalının zararlı etkilerini engellerler.

1.3.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

1.3.2.1. C vitamini (askorbik asit)

Askorbik asit; kollajen sentezi, demir emilimi ve hücrelerin redoks durumunun devamlılığı için gerekli, suda çözünen, düşük molekül ağırlıklı bir antioksidandır (58). Güçlü bir indirgeyici ajan ve antioksidan olup, süperoksit, peroksit ve hidroksil radikalleriyle reaksiyona girerek bir ara ürün olan semidehidroaskorbat yoluyla metaboliti dehidroaskorbik asiti oluştururlar (50).

Askorbik asit E vitamininin rejenerasyonunda da görev alır, tokoferoksil radikalının α -tokoferole indirgenmesini sağlar. Böylece E vitamini ile birlikte etkin bir şekilde düşük dansiteli lipoproteini (LDL) oksidasyona karşı korur. Askorbik asit ayrıca antiproteazların, oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller.

Askorbik asit hücre dışı sıvıların en önemli antioksidanıdır. Membran içindeki ve ekstrasellüler dokulardaki lipid peroksidasyonunu önlerler. İskemi ve reperfüzyon süreçleri serumda askorbik asidin azalması ile sonuçlanmaktadır (59).

1.3.2.2. β -karoten (Vitamin-A)

A vitamini ön maddesi olan β -karoten, plazmada α -tokoferole oranla çok düşük düzeylerde bulunmasına rağmen; aynı şekilde serbest radikal yakalayıcı olarak görev yapmakta ve doku hasarını önlemektedir. Güçlü bir singlet oksijen

temizleyicisidir. Peroksil, hidroksil ve alkoksil radikalleriyle de direkt reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu önleyebilir (60).

1.3.2.3. E vitamini (α -tokoferol)

Vitamin E lipid fazda çözünen zincir kırıcı etkiye sahip bir antioksidandır. Dokularda Vitamin E aktivitesinin % 90' ından sorumlu en aktif ve en yaygın formu α -tokoferol' dur. Alfa-tokoferol lipid peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek lipid hidroperoksid ve tokoferoksil radikalini oluşturur. Böylece lipid peroksidasyonunun ilerleme ve yayılmasını önler. Vitamin E peroksitlerin yapımını engellerken, GSH-Px ise oluşan peroksitleri ortadan kaldırdığı için bu iki antioksidan birbirini tamamlayıcı etkiye sahiptir.

E vitamini süperoksit, hidroksil radikallerini ve singlet oksijeni indirger, nitrik oksit ile de reaksiyona girebilir. Antioksidan etkisi, yüksek oksijen konsantrasyonlarında belirgindir. Eritrosit membranı, solunum yolu membranları, retina gibi yüksek parsiyel oksijen basıncına maruz kalan lipid yapılarda daha fazladır (61).

1.3.2.4. Seruloplazmin

Akut faz proteinlerindendir. İnsan plazmasının antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmını oluşturur. Ferro demiri yükseltgeyerek Fenton reaksiyonunu ve böylece serbest radikal oluşumunu inhibe eder (39).

1.3.2.5. Melatonin

En zararlı radikallerden biri olan hidroksil radikalini ortadan kaldıran güçlü bir antioksidandır. Pineal bezden salgılanan direkt radikal temizleyici, indirekt olarak da antioksidan enzim düzeylerini artıran ve nitrik oksit sentetaz gibi preoksidatif enzimleri baskılayan antioksidan bir hormondur (36).

1.3.2.6. Bilirübin

Etkin bir lipid antioksidanı olan bilirübin, Hem proteinlerinin yıkım ürünüdür. Çok düşük konsantrasyonlarda dahi peroksil radikalini yakaladığı ve zincir kıran antioksidan olarak davrandığı gösterilmiştir.

1.3.2.7. Ubikinonlar

İnsanlarda bulunan temel ubikinon, ubikinon 10 (koenzim Q)' dur. Esas görevi olan solunum zincirinde redoks taşıyıcılığının yanında, redükte durumda iken serbest radikaller ile etkileşerek, lipid peroksidasyonunun başlamasını ve biyomoleküllerin hasar görmesini engeller (62).

1.3.2.8. Ürik asit

Etkisini; demir ve bakır iyonlarını bağlayarak ayrıca singlet oksijen, hipoklorik asit, hidroksil, süperoksit ve peroksil radikallerini temizleyerek gösterir. Lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur.

1.3.2.9. Albumin

Lipid peroksidasyonunun başlamasını, yapısında bulunan çok sayıda sülfidril grubu aracılığıyla bakır iyonlarını bağlayarak sağlar. Bu şekilde bakır iyonlarının diğer proteinlerdeki sülfidril gruplarına bağlanması ve bu proteinleri hasara uğratması engellenmiş olur. Bakır iyonları albumin yapısında hasar oluşturur ancak yarı ömrü çok kısa olduğu için kolayca yenilenir.

1.3.2.10. Laktoferrin, Transferrin, Haptoglobin ve Östrojen

Transferin demiri, haptoglobin serbest hemoglobini bağlar. Fagositer hücrelerden salınan protein yapısındaki laktoferrin de düşük pH'larda ferrik iyonlarını bağlar. Östrojen ise içerdiği fenolik grup ile karaciğerde mikrozomal lipid peroksidasyonunu önler (63).

1.3.2.11. Glutasyon (GSH)

Glutasyon; glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşan bir tripeptiddir. Aktif grubu sisteinin sülfidril (-SH) grubudur. Redükte (GSH) ve okside (GSSG) şekilde bulunan glutasyon hücrenin oksidasyon-redüksiyon dengesini koruyan önemli bir indirgen ve antioksidan olup; hücreleri endojen ve eksojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden korumaktadır (63).

Çok önemli bir antioksidan olan glutasyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır. Ayrıca proteinlerdeki -SH gruplarını redükte halde tutarak oksidasyondan korur ve fonksiyonel protein ve enzimlerin inaktivasyonunu önler. GSH, glutasyon-S-transferaz enziminin katalizi ile endojen ve eksojen toksik bileşikler de konjuge etmektedir (36).

Nükleofilik bir yapıya sahip olan indirgenmiş glutasyon, elektrofilik karakterdeki karbon atomları ve Zn, Cd, Hg, Cu, Pb gibi atomlarla kompleks oluşturarak ağır metallerin vücuttan atılmasını sağlar (55).

1.3.3. Eksojen antioksidanlar

1.3.3.1. Kalsiyum antagonistleri

Hücre içindeki Ca konsantrasyonundaki artış kontraktıl filamentlerin aşırı aktivasyonu ile sonuçlanır. Buna ilave olarak, artmış mitokondriyal Ca yeterli ATP'nin oluşturulamadığı mitokondriyal yetersizliğe sebep olur. Bundan dolayı antiiskemik, negatif ionotropik ve kronotropik etkilerinin dışında, kalsiyum antagonistleri iskemi ve reperfüzyon (İR) sırasında yararlı bir etkiye sahiptir. Kroner ve ark. Diltiazem'in İR oluşturulan tavşan kalbinde mitokondriyal bütünlüğü ve fonksiyonları koruduğunu göstermişlerdir (64).

1.3.3.2. Na⁺/H⁺ değiştirici inhibitörleri

Na⁺/H⁺ değiştirici inhibitörler (cariporide) hücre içine Na⁺ akışını azaltır. Bunu takiben hücre içi aşırı Ca yükünü azaltır. Ayrıca H⁺'in hücre dışına akışını azaltır. Bu da ATP üretimi için faydalı olabilir. ATP koruyucu etkisinden dolayı, Na⁺/H⁺ değiştirici inhibitörler kalp cerrahisi sırasındaki İR hasarını önlemede faydalıdır. GUARDIAN çalışmasında da yüksek riskli CABG cerrahisi geçiren hastalarda cariporide'in kardiyoprotektif olduğu ileri sürülmüştür (65).

1.3.3.3. NO-donörleri

Klinik bir çalışmada, ön kolda İR'un meydana getirdiği endotelial disfonksiyonda 15 dakika süresince 20mg/dk'dan L-arginin verilmesinin faydalı etkisi gösterilmiştir (66). Lerman ve ark. 6 ay oral L-arginin verilen hastalarda küçük koroner damarlarda endotelial fonksiyonların düzeldiğini göstermişlerdir (67). Jones ve ark. endotelial NOS'un aşırı sunumunun farelerde miyokardiyal İR hasarını azalttığını göstermişlerdir (68).

1.3.3.4. Kontraktilite inhibitörleri

Hiperkontraktür gelişimi geçici kontraktıl inhibisyon veya kontraktıl miyoflamentlerin duyarsızlaştırılması ile önlenebilir. Bu da hücre içindeki Ca miktarını azaltarak veya cGMP'nin düzenlenmesi ile sağlanır. Uzamış iskemiden sonra cGMP düzeyleri miyokard hücresinde azalır. ANP, urodilatin (natriüretik peptid ailesinin bir üyesi) kullanımı ile cGMP düzeyleri artırılır (69).

1.3.3.5. Adenozin veya adenozin reseptör agonistleri

Adenozin reseptör agonistleri serbest radikal üretimi ve nötrofil fonksiyonlarının inhibisyonundan sorumlu görünür (70). Adenozin, aynı zamanda

mitokondriyal ATP duyarlı potasyum kanallarını açarak anti-iskemik etkiye sahiptir.

1.3.3.6. Anjiotensin converting enzim (ACE) inhibitörleri

Hayvan deneylerinde, ACE inhibitörlerinin ventriküler fibrilasyon eşiğini artırdığı, fibrilasyon episodlarını ve ventriküler taşikardi sayısını azalttığı gösterilmiştir. ACE inhibitörleri aynı zamanda miyokardiyal infarkt alanını azaltırlar. Quinapril'in, iskemi-reperfüzyondaki rat kalbinde, miyokardiyal apoptoziste inhibisyon etkisi gösterilmiştir (71).

1.3.3.7. Kompleman sistem inhibitörleri

C1 esteraz inhibitörü, C5a'ya karşı monoklonal bir antikor ve C5a reseptör antagonisti tarafından kompleman sisteminin inhibisyonu, miyokardiyal İR'u takip eden infarkt büyüklüğünü azaltır. Fitch ve ark. CABG geçiren hastalara insan anti-C5 antikor verildiği zaman, postoperatif miyokardiyal injüri, kavramsal zarar ve kan kaybının azaldığını göstermişlerdir (72).

1.3.3.8. Endotelin-1 reseptör antagonistleri

Bosentan Endotelin-1 reseptör antagonistidir. Hipoksik miyokardın reoksijenizasyonu sırasında, Bosentan kullanımı apoptotik miyosit sayısını azaltır ve miyokardın fonksiyonel iyileşmesini düzeltir (73). Bu etkilerinin muhtemel mekanizmaları vazospazmı azaltma, lökosit arabuluculu hasarı azaltma ve NO yolunun tesirini artırmadır.

1.3.3.9. Glukoz-insülin-potasyum solüsyonları

Glukoz-insülin-potasyum (GIK) solüsyonları miyokardiyal glikoz alımını artırmak yolu ile aerobik miyokardiyal metabolizmayı artırır. Sirküle eden serbest yağ asitlerinin seviyesini düşürerek toksik etkilerini azaltır. Mannitole benzer bir etki mekanizması ile hücrelerin küçülmesine neden olur. İntrasellüler kalsiyumu artırarak miyokardiyal kontraktileti güçlendirir.

1.3.3.10. Statinler

Statinler, lipid düşürücü etkilerinden bağımsız olarak, İR'da akut tedavide rol alırlar. Doza bağımlı olarak infarkt alanını azaltırlar. Nötrofillerin ekstrevasiyonunu ve aktivasyonunu önlerler. Ayrıca endotelial disfonksiyon ve kardiyak kontraktil disfonksiyonda yararlı etkiye sahiptirler (74).

1.3.3.11. Mağnezyum (Mg)

Mg fizyolojik bir Ca kanal blokeridir. Bundan dolayı kardiyoprotektif olabilir. Kohno ve ark. CABG operasyonu geçirmiş 200 hastada postoperatif 3 gün Mg infüzyonu verilmesinin etkisini değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak, postoperatif 3 gün Mg infüzyonu postoperatif meydana gelen atrial fibrilasyon insidansını azaltmada etkilidir (75).

1.3.3.12. Trimetazidin

Trimetazidin anti-iskemik bir ajandır ve spesifik yağ asidi oksidasyonunu inhibe eder.

1.3.3.13. Aprotinin

Aprotinin (Trasylol) non-spesifik serin proteaz inhibitörüdür. Kalp cerrahisine eşlik eden kan kaybını azaltmak için kullanılır. Anti-inflamatuar özellikleri vardır. İR hasarından korumayı sağlayabilir. Ratlarda yapılan bir çalışmada, miyokardiyal İR'da sistolik fonksiyonları koruduğu, apoptozisi azalttığı ortaya konmuştur (76).

1.3.3.14. ATP duyarlı potasyum kanal açıcılar

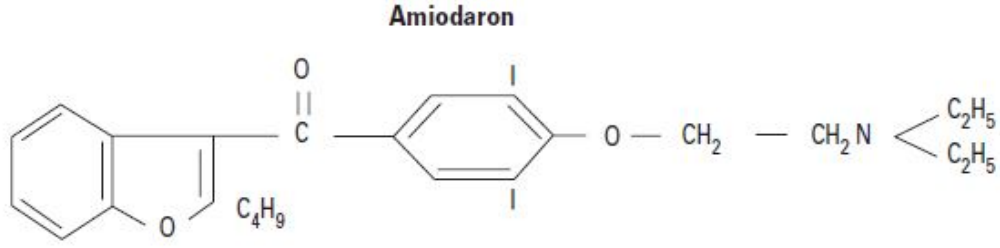
ATP duyarlı K kanalları normal olarak hücre içi ATP tarafından inhibe edilirler ve enerji tüketimi sırasında açılırlar (77). K-ATP kanal açıcılar (Nicorandil, Cromakalin, pinacidil gibi) iskemik önkoşullama sağlayarak miyokardı İR hasarından korurlar. Bu ajanlar hücre membranının hiperpolarizasyonuna neden olmakta ve kardiyak arreste yol açmaktadırlar.

1.3.3.15. Diğerleri

B6 vitamini metaboliti (Piridoksal-5-fosfat), Na⁺/Ca²⁺ değiştirici inhibitörleri, nötrofil inhibitörleri

1.4. Amiodaron

Amiodaron {2-butyl-3-(3', 5' diiodo-4'alfa-diethyl-amino-ethoxy-benzoyl)-benzofuran} güçlü bir antiaritmik ve antianjinal ilaçtır. Diğer ilaçlar etkisiz olduğu veya tolere edilmediği zamanlar hayatı tehdit edici ventriküler taşiaritmileri olan hastaların tedavisinde FDA tarafından onaylanmıştır (Şekil 3).



Şekil 3. Amiodaronun kimyasal yapısı

1.4.1 Elektrofizyolojik etkiler

Uzun süre boyunca oral olarak alındığı zaman amiodaron tüm kardiyak liflerde APD'yi (aksiyon potansiyel süresi) ve refrakterliği, dinlenme membran potansiyelini etkilemeden uzatır. Akut etkiler değerlendirildiği zaman amiodaron ve metaboliti desetilamiodaron ventriküler kasın APD'sini uzatır, ancak purkinje liflerinin APD'sini kısaltır. Sinüs ve AV düğümü arterlerine enjekte edilen amiodaron sinüs ve bileşkesel deşarj hızlarını azaltır ve AV düğümü iletim zamanını uzatır. Sinüs düğümünün diastolik depolarizasyonunun eğimini azaltır ve guinea domuz papiller kasındaki V_{max} 'ı hız ve kullanıma bağlı bir şekilde önemli ölçüde baskılar. V_{max} 'ın bu şekilde baskılanması inaktive sodyum kanallarının bloke edici etkisiyle ortaya çıkmıştır. Bu etki depolarize membran potansiyeli ile şiddetlenir, hiperpolarize membran potansiyeli ile azalır. Amiodaron depolarizasyona bağlı otomatisiteyi de inhibe eder. Amiodaron sadece V_{max} 'ı baskılayarak değil aynı zamanda pasif ileti akımına direnci artırarak, yüksek hızlarda iletimi, düşük hızlara nazaran daha fazla baskılar. Repolarizasyonu ise yüksek hızlara nazaran düşük hızlarda daha fazla uzatmaz. Ancak refrakterlik üzerine zaman bağımlı etkiler gösterir ki bu da düşük torsades de pointesin insidansını ve yüksek etkinliği kısmen açıklayabilir.

Desetilamiodaron, hızlı kanal dokusu üzerine göreceli olarak daha büyük etkilere sahiptir ve muhtemelen antiaritmik etkinliğe önemli katkıları vardır. Bu metabolitin yeterli konsantrasyonlarını inşa etmede ortaya çıkan bir gecikme, amiodaronun antiaritmik etkisinde gecikmeye yol açabilir.

İn vivo olarak amiodaron nonkompetatif bir şekilde alfa ve beta reseptörleri antagonize eder ve tiroksinin (T4) triiyodotironine (T3) dönüşmesini bloke eder; bu

da elektrofizyolojik etkilerinin bazılarında sorumludur. Amiodaron yavaş kanal bloke edici etkiler gösterir ve kronik oral tedavi, propranolol ve atropin ile yapılan ön tedaviden hemen sonra bile uyuşturulmuş köpeklerdeki spontane sinüs düğümü deşarj hızını yavaşlatır. Oral uygulaması ile sinüs hızını yüzde 20 ila 30 azaltır ve QT aralığını uzatır; zaman zaman T dalgası kontürünü değiştirir ve U dalgaları oluşturur.

İntra venöz olarak verilen amiodaron atriyal ve ventriküler kasın refrakter periyodunu ılımlı bir şekilde uzatır. PR aralığı ve AV düğüm ileti zamanı uzamıştır. QRS kompleksinin süresi yüksek hızlarda artar, ancak bu artış oral amiodaron uygulamasından sonrasına göre daha azdır. Bu nedenle iletim zamanı uzaması, repolarizasyon süresi ve refrakterliğin çok daha az artması, oral uygulamaya nazaran intra venöz uygulamasından sonra ortaya çıkmaktadır. Bu etkileri göz önüne aldığımızda amiodaronun, sınıf III etkilere ilaveten sınıf I, sınıf II ve sınıf IV etkileri de vardır. Amiodaronun etkileri, bloktan hızlı diastolik iyileşme ve kullanıma bağlı APD uzaması ile birlikte kullanıma bağlı sodyum kanal blokajı yapan teorik olarak ideal bir ilacın etkilerine benzemektedir. QT yayılımını arttırmaz, azaltabilir. Katekolaminler amiodaronun bazı etkilerini kısmen geriye döndürebilirler.

1.4.2. Hemodinamik etkiler

Amiodaron periferik ve koroner vazodilatördür. İntravenöz olarak uygulandığında (150 mg 10 dakikada, daha sonra 1mg/dk infüzyon) kalp hızını, sistemik vasküler direnci ve sol ventrikül kontraktıl gücünü azaltır. Amiodaronun kardiyak aritmileri kontrol etmeye yeten oral dozları, düşük ejeksiyon fraksiyonu olan hastalarda dahi sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunu baskılamaz hatta kalp debisini biraz arttırabilir. Ancak amiodaronun antiadrenerjik etkilerinden dolayı ve negatif inotropik etkiler sergilediği için, marjinal kardiyak kompensasyonu olan hastalara, özellikle de intravenöz olarak dikkatli bir şekilde verilmelidir.

1.4.3. Farmakokinetik

Amiodaron yavaşça, değişebilir şekilde ve eksik olarak emilir, sistemik biyoyararlanımı yüzde 35 ila 65'dir. Plazma konsantrasyonları tek bir oral dozdan 3 ila 7 saat sonra pik yapar. Minimal derecede ilk geçiş etkisi ve az miktarda hepatik atılımı vardır. Enterohepatik dolaşıma yeniden girerek hepatobiliyer yolla atılır. Kapsamlı hepatik metabolizma major metabolit olarak desetilamiodaron ile ortaya çıkar. Ana bileşiğin plazma konsantrasyonunun metabolite oranı 3:2'dir. Her ikisi de

geniş ölçüde karaciğer, akciğer, yağ, mavi cilt ve diğer dokularda birikirler. Miyokartta plazmada bulunanın 10 ila 50 misli orana erişir. Amiodaronun plazma klirensi düşüktür, renal eksresyonu ihmal edilebilir. Renal hastalığı olan kişilerde dozun azaltılması gerekmez. Amiodaron ve desetilamiodaron diyalize müsait değildir. Volüm distribüsyonu geniş ancak değişken olup ortalama 60 litre/kg'dır. Amiodaron proteinlere yüksek oranda bağlanır (yüzde 96), plasentayı geçer (yüzde 10 ila 50) ve anne sütünde bulunur.

IV uygulamasından sonra etkinin başlaması genellikle 1 ila 2 saattir. Oral uygulamadan sonra etkinin başlaması 2 ila 3 günü alabileceği gibi, genellikle 1 ila 3 haftayı bulur ve nadiren daha da uzun sürebilir. Yükleme dozları bu zaman aralığını azaltır. Kronik tedavi sırasında oral dozlar plazma konsantrasyonları ile bir korelasyon göstermekte olup 100 ve 600 mg/gün arasındaki dozlarda her bir 100 mg/gün için ortalama olarak 0.5 µg/ml'dir. Eliminasyon yarılanma ömrü multifaziktir; ilaç verilmesinin kesilmesinden 3 ila 10 gün sonra plazma konsantrasyonunda ilk yüzde 50'lik azalma olur. (muhtemelen iyi perfüze eden dokulardaki eliminasyon) ve bunu da terminal yarılanma ömrü olan 26 ila 107 gün (ortalama 53 gün)'dür. Bu parametrelerin hastadan hastaya değişmesinden dolayı yakın takip gerekir. Terapötik serum konsantrasyonları 1 ila 2.5 µg/ml arasındadır. 3.5 µg/ml'de aritmiler daha fazla baskılanabilir, ancak yan etki riskleri de artar.

1.4.4. Endikasyonlar

Amiodaron AV düğümü ve AV girişi, kavşak taşikardisi, atriyal flutter ve fibrilasyon, koroner arter hastalığı ile ilişkili VT ve VF, hipertrofik kardiyomiyopati dahil olmak üzere geniş spektrumlu olarak in utero, yetişkinlerde ve çocuklarda supraventriküler ve ventriküler taşiaritmileri bastırmak için kullanılır. Başarı oranları, hasta popülasyonuna, aritmiye, altta yatan kalp hastalığına, izlem süresine, başarının tanımı ve belirlenmesine ve diğer faktörlere bağlı olarak büyük ölçüde değişmektedir. Ancak genellikle amiodaronun etkinliği tüm diğer antiaritmik ajanlarınkine eşit veya onlardan daha fazla olup çoğu supraventriküler taşiaritmiler için yüzde 60 ila 80 ve ventriküler taşiaritmiler içinse yüzde 40 ila 60 aralığında olabilir. Amiodaron; hipertrofik kardiyomiyopatili, noniskemik dilate kardiyomiyopatili, miyokart enfarktüsü sonrası asemptomatik ventriküler aritmisi ve kardiyak arrest resusitasyonu sırasında ya da sonrasında ventriküler taşiaritmisi olan

hastalardaki sağkalımı arttırmada faydalı olabilir (78). Açık kalp cerrahisi öncesinde ve postoperatif olarak verilen amiodaronun postoperatif atriyal fibrilasyon insidansını azalttığı gösterilmiştir (79). Amiodaron, rekürren atriyal fibrilasyonu olan hastalarda sinüs ritmini korumada sınıf I antiaritmik ilaçlardan ve sotalolden üstündür.

ICD'si (İmplantable cardioverter defibrillator) olan hastalar, konvansiyonel ilaç alan hastalara kıyasla, amiodaron ile tedavi oldukları zaman daha az şok geçirirler (80). Amiodaron, uyarılma (pacing) eşiği üzerine çok az etkilidir, ancak genellikle elektriksel defibrilasyon eşiğini az miktarda artırır.

Birkaç prospektif, randomize, kontrollü çalışma, miyokart enfarktüsü sonrasında plasebo yada metoprolol ile kıyasla amiodaron tedavisi ile sağkalımın arttığını göstermiştir. Amiodaronun VF'den kurtulan hastalardaki sağkalımı, konvansiyonel ilaçlara nazaran artırdığı bulunmuştur. Konjestif kalp yetmezliği olan hastalarda amiodaron tedavisi bir çalışmada sağkalımı artırmıştır (bu çalışmada kalp yetmezliği esasen noniskemik kardiyomiyopatiye bağlıdır). Başka bir çalışmada (öncelikle iskemik kardiyomiyopati hastaları) ise hiçbir fayda gözlenmemiştir.

Ciddi seyirli aritmilerin tedavi edilmesi, ilacın alışılmadık farmakokinetiği ve istenmeyen etkilerinden dolayı amiodaron tedavisi hastanede başlatılmalıdır ve en az birkaç gün boyunca hasta takip edilmelidir. Amiodaronu diğer antiaritmik ajanlar ile kombine etmek bazı hastalarda etkinliğini artırabilir.

1.4.5. İstenmeyen etkiler

Amiodaronla 5 yıl boyunca tedavi edilen hastaların yaklaşık olarak yüzde 75'inde istenmeyen etkiler bildirilmiştir. Bunların yüzde 18 ila 37'sinde ilacın kesilmesi gerekmiştir. İlacın kesilmesini gerektiren en sık görülen yan etkiler pulmoner ve gastrointestinal şikayetlerdir. İstenmeyen etkilerin çoğu, dozun azaltılması yada tedavinin kesilmesi ile geriye dönmektedir. İstenmeyen etkiler daha çok uzun dönemli ve yüksek dozlarda yapılan tedavilerde ortaya çıkar. Nonkardiyak istenmeyen reaksiyonlardan en ciddişi pulmoner toksisitedir. Bir çalışmada 6 gün ve 60 ay arasındaki tedavide 573 hastadan 33'ünde pulmoner toksisite ortaya çıkmış ve 3 kişi ölmüştür. Mekanizması belli değildir; ancak hipersensitivite reaksiyonu ve/veya yaygın fosfolipidozisi içerebilmektedir. Dispne, kuru öksürük ve ateş en yaygın belirtilerdir. Hastalarda hipoksi, pozitif gallium taraması, düşük difüzyon

kapasitesi ve radyografik olarak pulmoner infiltrasyon kanıtları bulunmaktadır (81, 82) Eğer bu tür bir pulmoner enflamatuvar değişiklik ortaya çıkarsa amiodaron kesilmelidir. Kortikosteroidler denenebilir; ancak kullanımlarını destekleyen herhangi bir kontrollü çalışma yapılmamıştır. Pulmoner inflamatuvar değişiklikleri olan hastalarda, genellikle de farkına varılmayan ve ilerlemesine yol açılan pulmoner tutulumu olan hastalarda, yüzde 10 oranında mortalite vardır. İlk 3 aylık aralıklarla, daha sonraki yıllar ise yılda iki kez göğüs röntgenleri ve aralarında karbonmonoksit difüzyon kapasitesinin (DLCO) de olduğu pulmoner fonksiyon testleri önerilmektedir. 300 mg/dl'den daha az olan idame dozlarında pulmoner toksisite yaygın değildir. İlerlemiş yaş, ilacın yüksek idame dozları ve ilaç öncesi düşük difüzyon kapasitesi pulmoner toksisite açısından risk faktörleridir. Tedavideki değişmemiş DLCO pulmoner toksisite açısından negatif bir öngördürücü olabilir.

Çoğu hastada karaciğer enzimleri asemptomatik olarak yüksek bulunmasına karşın, başlangıç değerleri anormal olan bir hastadaki değerler normal değerlerin iki üç misline çıkmadığı takdirde bu ilaç kesilmez. Nadiren siroz ortaya çıkabilir ve öldürücü olabilir. Nörolojik disfonksiyon, fotosensitivite (muhtemelen güneş kremleri ile azalır), cilt renginin mavileşmesi, gastroenterolojik bozukluklar ve hipertiroidizm (yüzde 1 ila 2) veya hipotiroidizm (yüzde 2 ila 4) ortaya çıkabilir (83). Amiodaron T4'ün T3'e periferik dönüşümünü inhibe ediyor gibi görünmektedir; böylece kimyasal değişiklikler olur ve bunlar da T4, revers T3 ve tiroid stimulan hormon (TSH) seviyesindeki hafif artış ve T3 seviyesindeki hafif azalma ile karakterizedir. Revers T3 konsantrasyonu ilaç etkinliği için bir indeks olarak kullanılır. Hipotiroidizm sırasında TSH büyük ölçüde artar, T3 ise hipertiroidizmde artar. Amiodaron alınırken tiroid fonksiyonu testleri ilk yıl için takriben her 3 ayda bir, ilk yıldan sonra yılda bir ya da iki kez yapılmalıdır; tiroid disfonksiyonu ile uyumlu semptomlar gelişirse daha da kısa bir süre içinde yapılır. Korneal mikrodpozitler ilacı 6 aydan daha uzun süre alan yetişkinlerin neredeyse yüzde 100'ünde gözlenir. Aralarında optik nörit ve/veya görme kaybı ile birlikte atrofinin de olduğu daha ciddi oküler reaksiyonlar bildirilmiştir; ancak nadirdir ve amiodaronla bir nedensellik kurulamamıştır (84).

Kardiyak yan etkiler ise, yaklaşık olarak yüzde 2 oranında görülen semptomatik bradikardiler; muhtemelen kadınlarda daha yüksek olan yüzde 1 ila 2

oranında gözlenen ventriküler taşiaritmi kötüleşmesi ve yüzde 2 oranında görülen konjestif kalp yetmezliği kötüleşmesidir. Muhtemelen anesteziyle etkileşimlerden dolayı, açık kalp cerrahisinden sonra pulmoner disfonksiyon, hipotansiyon, hepatik disfonksiyon ve düşük kalp debisi gibi komplikasyonlar bazı araştırmacılar tarafından fark edilmiştir.

Genellikle, istenmeyen etkilerden sakınmak için amiodaronun hala etkili olan olası en düşük dozu kullanılmalıdır. Günlük 200 mg yada daha az olan dozlarda pek çok supraventriküler aritmi başarılı bir şekilde tedavi edilebilir. Ventriküler aritmiler ise genellikle daha yüksek dozlara gereksinim duyar. Çeşitli organ sistemlerindeki potansiyel toksisiteden dolayı, ilacı kullanırken ortaya çıkabilecek istenmeyen sonuçların önüne geçebilmek için özel multidisipliner amiodaron kliniği kullanılır.

Diğer ilaçlarla önemli etkileşimler ortaya çıkabilir ve bu ilaçlar amiodaronla birlikte uygulandığında warfarin, digoksin ve diğer antiaritmik ilaçların dozları üçte bir ile ikide bir oranında azaltılmalı ve hasta yakından takip edilmelidir. Sinerjik etkili ilaçlar da (beta blokerler ve kalsiyum kanal blokerleri gibi) dikkatli bir şekilde verilmelidir. Amiodaronun gebelik sırasındaki güvenilirliği saptanmamıştır; sadece başka bir alternatif olmadığı taktirde gebelerde kullanılmalıdır.

1.4.6. Amiodaron ve açık kalp cerrahisi

Amiodaron'un açık kalp cerrahisinde iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkisini araştıran herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak post operatif atriyal fibrilasyon (AF) gelişiminin önlenmesi için birçok çalışma bulunmaktadır. White ve arkadaşlarının (85) yapmış olduğu bir çalışmada post operatif altı saat içinde 1050 mg amiodaron infüzyonu uygulanmış, takip eden dört gün boyunca da total 4800 mg amiodaron verilmiş ve AF oluşma sıklığı anlamlı derecede azalmıştır. Bizimde oral amiodaron uygulama dozunu örnek aldığımız White ve ark. (86) yapmış olduğu diğer bir çalışmada, hastalara toplam 6 gram oral amiodaron verilmiş, AF oluşma riski anlamlı derecede azalmış ve verilen oral amiodaron oldukça iyi tolere edilmiştir.

1.4.7. Amiodaron ve antioksidan aktivite

Açık kalp cerrahisinde sık kullanılan bir ajan olan amiodaron'un son yıllarda antioksidatif özelliklerinin de olduğu belirtilmektedir (87, 88). Yapılan bir çalışmada amiodaron'un serbest oksijen radikallerinin yaptığı oksidatif hasara karşı kardiyak

myositleri koruduğu gösterilmiştir (89). Başka bir çalışmada da amiodaron'un mitokondriyal membranlardaki lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etkisi olduğu belirtilmektedir (90). Diğer bir çalışmada ise amiodaron'un araşidonik asit metabolizmasında inflamatuvar mediatörlerin üretilmesinde ilk basamağı oluşturan fosfolipaz enzimini inhibe ederek antioksidan aktiviteye katkı sağladığı rapor edilmiştir (91).

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda CPB (kardiyo-pulmoner bypass) ile koroner arter bypass greft operasyonu (CABG) yapılan 20 hasta çalışmaya alındı. Çalışmaya tiroid hastalığı/operasyonu öyküsü bulunanlar, kronik antiaritmik ilaç kullananlar, acil operasyona alınanlar, reoperasyonlar, ilave cerrahi işlem uygulanacaklar, 80 yaş üzeri hastalar, kronik renal yetmezliği, KOAH ve karaciğer yetmezliği olanlar, kalp hızı 60/dk'dan ve ejeksiyon fraksiyonu (EF) % 30'dan düşük olan hastalar, aktif enfeksiyonu olanlar çalışmaya alınmadı. Fakülte Etik Komitesi'nden onay, hastalardan imzalı izin belgesi alındı. Hastalar randomize iki gruba ayrıldı (Grup 1: kontrol grubu, n:10; Grup 2: amiodaron grubu, n:10). Grup 2'deki hastalara preop 1. günde amiodaron 200 mg tablet (Cordarone tablet, 200 mg Sanofi-Turkey) günde 4 kez 2 tablet, operasyon günü 2 kez 3 tablet ve post-op dönemde de 4 gün boyunca 2 kez 2 tablet olarak toplam 6 gram olarak verildi.

2.1. Anestezi ve cerrahi işlem

Hastalara anestezi indüksiyonu öncesi femoral arter yoluyla arteriyel kateter, juguler ven yoluyla santral venöz kateter (8F Introducer, St. Jude Medical Company, USA) ve Swan-Ganz kateteri (7F, Abbott Lab., USA) yerleştirildi. Anestezi indüksiyonu ve idamesi bütün hastalarda standart olarak fentanyl (20-40 µg/kg indüksiyon, 0, 3-1 µg/kg/dk idame, Fentanyl Citrate, Abbott), midazolam (0.1 mg/kg indüksiyon, 0, 8 µg/kg/dk idame, Dormicum, Roche) ve vecuronyum (0.1 mg/kg indüksiyon, Norcuron, Organon) ile sağlandı. Rektal ısı tayini için rektal prob ve idrar takibi için foley kateter yerleştirildi. Hastalar AMS 8200 ventilatör (AMS, England) ile ventile, Datex monitör (Datex Engström, Finland) ile monitörize edildi.

Bütün hastalarda median sternotomi tekniği kullanıldı. Greft olarak kullanılmak üzere sol internal torasik arter ve vena safena magna hazırlandı. Heparinizasyonu takiben (3 mg/kg, Nevparin, Mustafa Nevzat), sağ atriuma two-stage venöz kanül, çıkan aortaya arteriyel kanül ve antegrad kardiyopleji kateteri yerleştirildi. Activated Clotting Time (ACT) 450 saniyeye ulaştığında parsiyel kardiyopulmoner bypassa (CPB) girildi. CPB roller pompa (Stockert Instrumente, Germany) ve membran oksijenatör (Dideco D 708 simplex III, Italy) ile

gerçekleştirildi. Prime solüsyonu olarak 2000 ml Ringer Laktat kullanıldı ve pompa hematokriti % 20 seviyesinde tutuldu. Bütün hastalarda hafif derecede sistemik hipotermi (28-32°C) oluşturuldu. Kardiyak arresti takiben aortik kross-klemp yerleştirildi (total CPB). Pompa akımı 2.0-2.4 l/m², ortalama arter basıncı 50-80 mmHg seviyesinde tutuldu. Isınma işlemine, son distal anastomoz yapıldıktan sonra başlandı. Proksimal anastomozlar parsiyel CPB altında, aorta konan side-klemp eşliğinde yapıldı. CPB'tan çıkıldıktan sonra heparin protamin sülfat (Protamin, Roche) ile nötralize edilerek, arteryal ve venöz kanüller çekildi.

2.2. Myokard korunması

Bütün hastalar kardiyoplejik kardiyak arrest ile opere edildiler. Aorta kross-klemp konmasını takiben, antegrad kardiyopleji kateterinden 15cc/kg soğuk (4°C) kan kardiyopleji solüsyonu yüksek basınçla verildi (kan ile kristaloid sıvı oranı 4/1). Kardiyopleji idamesi, soğuk kan kardiyoplejisi kullanılarak 20 dakikada bir 500 ml antegrad yoldan yüksek basınçla verildi. Kross-klemp kaldırılmadan önce sıcak (32°C) kan kardiyoplejisi (hot shot, 400 ml) antegrad yüksek basınçta verildi.

2.3. Hemodinamik ölçümler

Tüm hastalarda hemodinamik değişkenler; ortalama arter basıncı (MAP), kalp hızı (HR), santral venöz basınç (CVP), ortalama pulmoner arter basıncı (MPAP), pulmoner kapiller wedge basıncı (PCWP), kardiyak output (CO), kardiyak indeks (CI) değerleri, anestezi indüksiyonu öncesi, kardiyo pulmoner bypass (CPB) öncesi, protamin infüzyonu sonrası ve postoperatif 24. saatte olmak üzere toplam 4 dönemde (T1-T4) değerlendirildi. Kardiyak output ölçümleri Swan-Ganz kateteri yardımıyla, kardiyak output seti (Edwards Lifesciences, USA) ve kardiyak output cihazı kullanılarak (Spectramed Hemopro, USA) yapıldı.

2.4. Biyokimyasal analiz

Oksidatif stresin biyokimyasal değerlendirilmesi için kan örnekleri, femoral artere yerleştirilen kateter yardımıyla anestezi indüksiyonu öncesi (T₁), kardiyo-pulmoner bypass (CPB) sırasında (T₂), kross klemp kaldırıldıktan sonra 5. dakikada (T₃), protamin infüzyonu sonrası (T₄) ve postoperatif 1. (T₅), 3. (T₆) ve 5. (T₇) gün olmak üzere toplam yedi dönemde alındı.

Biyokimyasal analizler için, her dönemde 8 ml sistemik arteriyal kan, 2 antikoagülanlı (K_3 -EDTA) tüpe ve bir biyokimya tüpüne koyuldu. İlk EDTA'lı tüp plazma NO düzeyi çalışmak için 3500 rpm'de 10 dk. santrifüje edilip üstte kalan plazma ayrılarak derin dondurucuda (-20°C) saklandı.

Eritrosit süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) aktivitesi ikinci EDTA'lı tüpten hazırlanan hemolizattan bakıldı.

Biyokimya tüpündeki örnek, serum malondialdehid (MDA) düzeyinin tespit edilmesi için 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip meydana gelen serum çalışılmak üzere derin dondurucuda saklandı.

2.4.1. Serum malondialdehit (MDA) tayini

Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin in-vivo değerlendirilmesi, tiyobarbitürik asit reaktif ürünlerinin (TBARS) ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Lipid peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehid (MDA) düzeyi, Satoh ve Yagi'den modifiye edilen yöntemle, pH'ın 3.4 olduğu aerobik şartlar altında, tiyobarbitürik asit (TBA) ile plazmanın kaynar su banyosunda inkübasyonu sonucu oluşan pembe renkli kompleksin, 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak değerlendirilmesiyle ölçüldü. Elde edilen MDA değeri nmol/ml olarak ifade edildi.

2.4.2. Plazma nitrik oksit ($\text{NO}^{\cdot}$) tayini

Total nitrit (nitrat+nitrit) konsantrasyonu “modifiye kadmiyum reaksiyonu” metodu ile tayin edildi. Nitratın proteinden zengin homojenat, serum ve plazma gibi solusyonlardaki spesifik olmayan reaksiyonlarını önlemek için serumlar önceden Griess reaksiyonu ile deproteinize edildi. Daha sonra pH 9.7 glisin tamponunda bakır (Cu) kaplı kadmiyum granülleri, numune süpernatantı ile 90 dakikalık inkübasyona bırakılarak nitratın redüksiyonu sağlandı. Üretilen nitrit miktarı, sülfanilamid ve buna bağlı N-naftiletilendiamin (NNDA) diazotizasyon reaksiyonu sonucu ile oluşan pembe renk 545 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Schimadzu UV-1201) okunarak belirlendi. Nitrit standartları kullanılarak elde edilen değerler $\mu\text{mol/ml}$ cinsinden hesaplandı.

2.4.3. Eritrosit süperoksit dismutaz (SOD) tayini

Eritrosit SOD enzim aktivitesi ölçümünde, ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak oluşturulan süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot-}$) radikallerinin, 2-[4-iyodofenil]-3-[4-

nitrofenol]-5-feniltetrazolium klorür (p-iyodonitrozolium violet: INT) ile oluşturduğu kırmızı renkli formazon boyasının, 560 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin okunması esas alındı. Örnekte bulunan SOD'un süperoksit radikalini ortamdaki uzaklaştırarak, formazon reaksiyonu ile oluşan kırmızı renkte azalmaya neden olmasından yola çıkarak, bu azalmanın spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile SOD aktivitesi hesaplandı. Elde edilen eritrosit SOD değeri U/grHb olarak ifade edildi.

2.4.4. Eritrosit glutatyon peroksidaz (GSH-Px) tayini

Bu ölçümde Paglia ve Valentine tarafından geliştirilen yöntem esas alındı. GSH-Px aktivitesi, kumen peroksit (ROOH) varlığında, GSH-Px'in, indirgenmiş glutatyonun (GSH) yükseltgenmiş glutatyona (GSSG) dönüşmesini katalizlediği reaksiyondaki NADPH'ın NADP⁺'ye yükseltgenmesi sırasında oluşan absorbans farkının 340 nm'de okunması ile ölçüldü. Elde edilen eritrosit GSH-Px değeri U/grHb olarak ifade edildi.

2.4.5. Eritrosit katalaz (CAT) tayini

Katalaz, katalitik aktivitesiyle H₂O₂ 'yi dekompoze ederek su ve oksijene dönüştürmektedir. Katalaz enzim aktivitesi Aebi metodu ile ölçüldü.

Hidrojen peroksit, 240 nm dalga boyunda maksimum absorbans göstermektedir. Hidrojen peroksidin katalaz enzimi tarafından parçalanması, ultraviyole spektrumunda bir absorbans azalması olarak takip edilir. Absorbansta görülen bu azalma enzim aktivitesi ile doğru orantılıdır.

2.5. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz için Statistical Programme Software System (SPSS) 15.0 programı kullanıldı. Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart deviasyon olarak gösterildi.

Gruplar arasında kategorik değişkenler arasındaki farkı değerlendirmede ki-kare testi kullanıldı. İki grup arasındaki demografik ve klinik verilerin karşılaştırılmasında student's t testi ve uygun durumlarda Mann-Whitney U testleri kullanıldı. Tekrarlanan ölçümler Willcoxon testi ile değerlendirildi. Sonuçların tümünde p<0.05 değerler anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Hastalar yaş, cinsiyet, pre-op ejeksiyon fraksiyon değerleri, klinik özellikleri, operasyonda yapılan anastamoz sayıları, vücut yüzey alanları (VYA), kardiyopulmoner bypass (CPB) ve kros-klemp süreleri, yoğun bakım (YB) ve toplam yatış süreleri dikkate alınarak değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 4).

Tablo 4. Preoperatif ve operatif karakteristikler

	Kontrol grubu	Amiodaron grubu	p
Yaş (yıl)	69±9.5	63.3±7.6	0.15
Cinsiyet(E/K)	5/5	4/6	0.26
Vücut yüzey alanı (VYA)	1.72±0.1	1.72±0.2	0.9
EF (%)	44±9.3	46.5±6.6	0, 50
Myokard infarktüsü (MI)	3	3	0.56
Unstabil angina pectoris	2	2	0.58
Anastamoz sayısı (adet)	3.2±0.4	3.3±0.4	0.72
CPB süresi (dk)	97.2±10.1	102.5±11.6	0.74
Kross-klemp süresi (dk)	58.2±9.1	59.5±9.8	0.78
YB' da kalış süresi (gün)	2.3±0.4	2.1±0.1	0.28
Toplam yatış süresi (gün)	8.2±0.7	8.0±0.6	0.54

3.1 Hemodinamik verilerin değerlendirilmesi

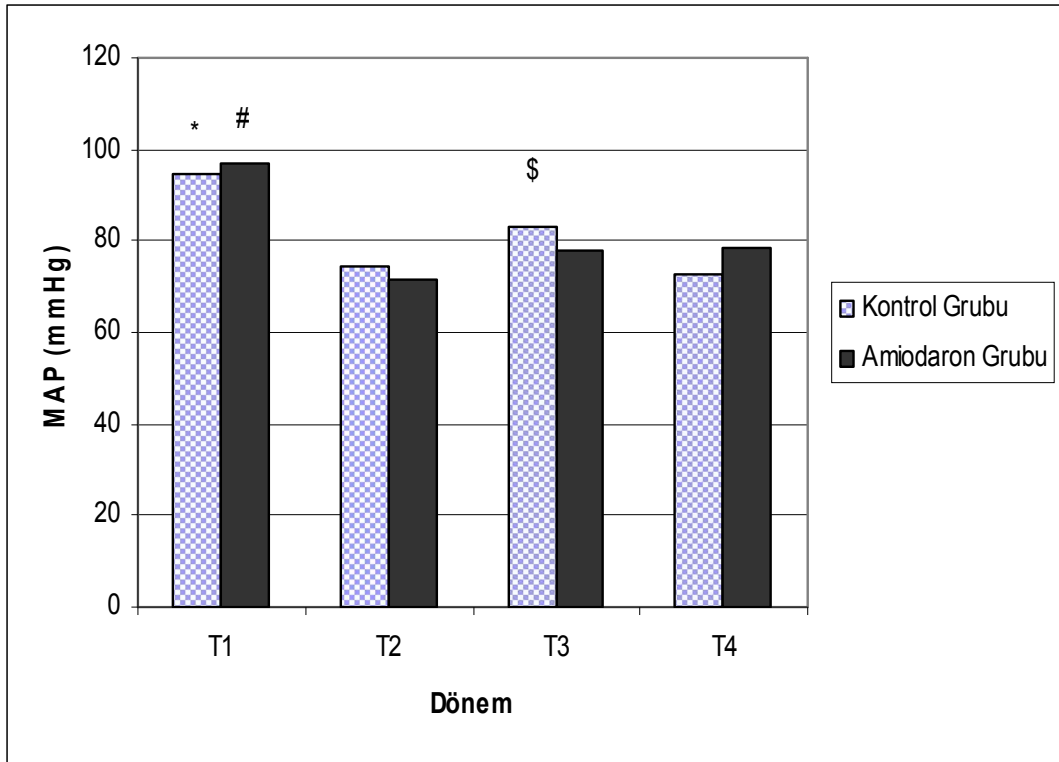
Aşağıdaki tabloda grupların bütün dönemlerindeki veriler özetlenmiştir (Tablo 5).

Grupların ortalama arter basınçları dikkate alındığında, bütün dönemlerde iki grup arasında anlamlı fark yoktu. Her grup kendi içinde değerlendirildiğinde, kontrol grubunda T₁ dönemindeki MAP değeri T₂ ve T₄'den, T₃ dönemindeki değer de T₄'den anlamlı olarak yüksek bulundu. Amiodaron grubu kendi arasında değerlendirildiğinde ise T₁ değeri diğer dönemlerden anlamlı olarak yüksekti (p<0.05) (Şekil 4).

Tablo 5. Grupların hemodinamik verileri

	T1	T2	T3	T4
MAP (mmHg)				
Kontrol	94.9±15.6	74.7±10.3	83±11.7	72.6±7.6
Amiodaron	97.2±12.1	71.5±9.7	78.1±21.4	78.7±10.9
HR (atım/dk)				
Kontrol	84.9±11.4	86.4±11.4	92±9.4	90.4±11.3
Amiodaron	70.4±12.8	73.7±12.8	85.4±18.5	88.6±11.7
CVP (mmHg)				
Kontrol	9.1±2.9	8.4±3.3	8.2±2.8	7.8±2.6
Amiodaron	7.2±2.0	7.1±2.3	7.3±2.2	6.8±3.3
MPAP (mmHg)				
Kontrol	23.0±4.7	17.9±5.2	20.3±4.1	18.6±4.4
Amiodaron	18.0±3.9	15.2±4.2	15.8±3.4	17.3±4.2
PCWP (mmHg)				
Kontrol	13.0±4.4	10.9±3.2	11.1±2.6	10.0±2.2
Amiodaron	11.1±2.8	9.9±2.6	7.9±2.3	7.8±3.7
CO (lt/dk)				
Kontrol	4.1±1.1	3.8±0.8	3.9 ±0.9	4.9±0.7
Amiodaron	4.6±1.2	3.9±0.9	4.3±1.0	4.8±0.8
CI (l/dk/m²)				
Kontrol	2.4±0.6	2.1±0.5	2.2±0.6	2.6±0.4
Amiodaron	2.5±0.7	2.4±0.6	2.3±0.5	2.9±0.5

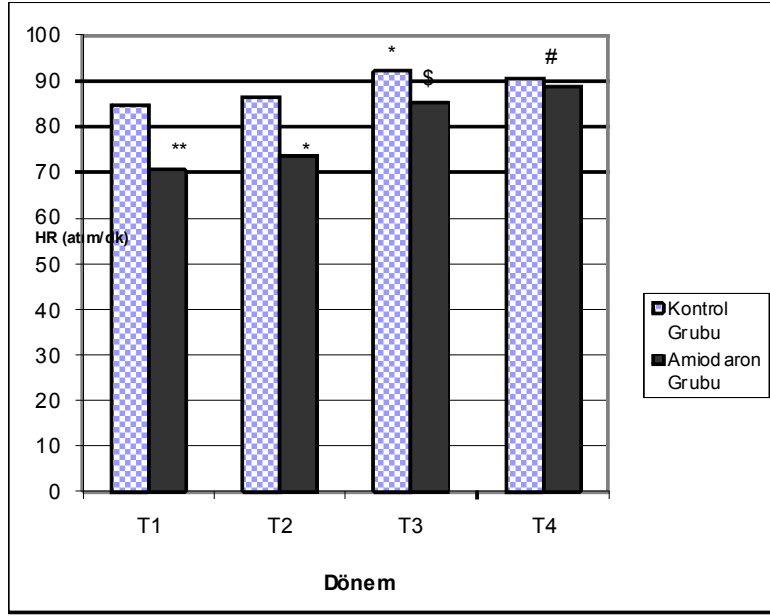
(MAP: Ortalama arter basıncı, HR: Kalp hızı, CVP: Santral venöz basınç, MPAP: Ortalama pulmoner arter basıncı, PCWP: Pulmoner kapiller wedge basıncı, CO: Kardiyak output, CI: Kardiyak indeks)



* $p < 0.05$ T₁ vs T₂ ve T₄, Kontrol grubu
 \$ $p < 0.05$ T₃ vs T₄, Kontrol grubu
 # $p < 0.05$ T₁ vs T₂, T₃, T₄, Amiodaron grubu

Şekil 4. Grupların ortalama arteriyel basınç (MAP) değerleri

Kalp hızı değerlendirilmesinde amiodaron grubundaki (Grup 2) T₁ ve T₂ değerlerinin kontrol grubuna (Grup 1) göre anlamlı olarak azaldığı görüldü ($p < 0, 05$). Gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde kontrol grubundaki T₃ değerinin T₂ değerine göre anlamlı olarak arttığı, amiodaron grubunda ise T₃ ve T₄ dönemindeki kalp hızının T₁ ve T₂ dönemlerine göre anlamlı olarak arttığı görüldü ($p < 0.05$)(Şekil 5).



** $p < 0.05$ Kontrol vs Amiodaron grubu T_1 ve T_2 de

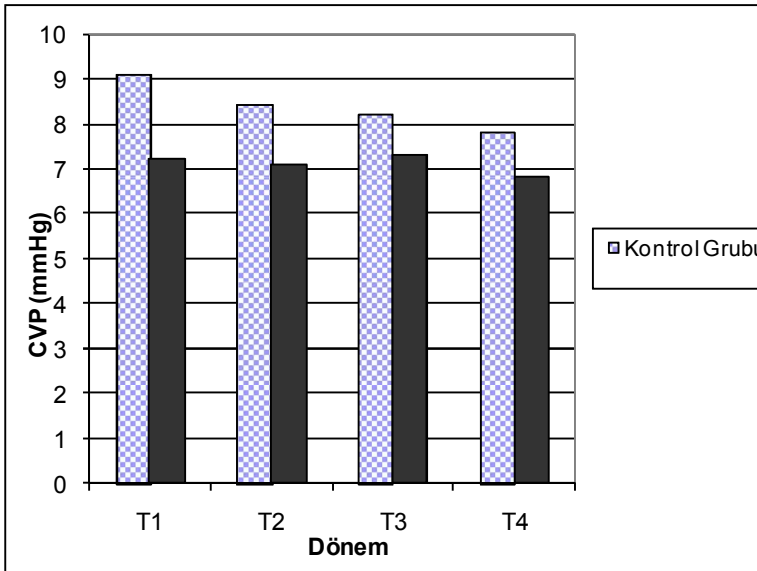
* $p < 0.05$ T_3 vs T_2 Kontrol grubu

$p < 0.05$ T_3 vs T_1 ve T_2 Amiodaron grubu

\$ $p < 0.05$ T_4 vs T_1 ve T_2 Amiodaron grubu

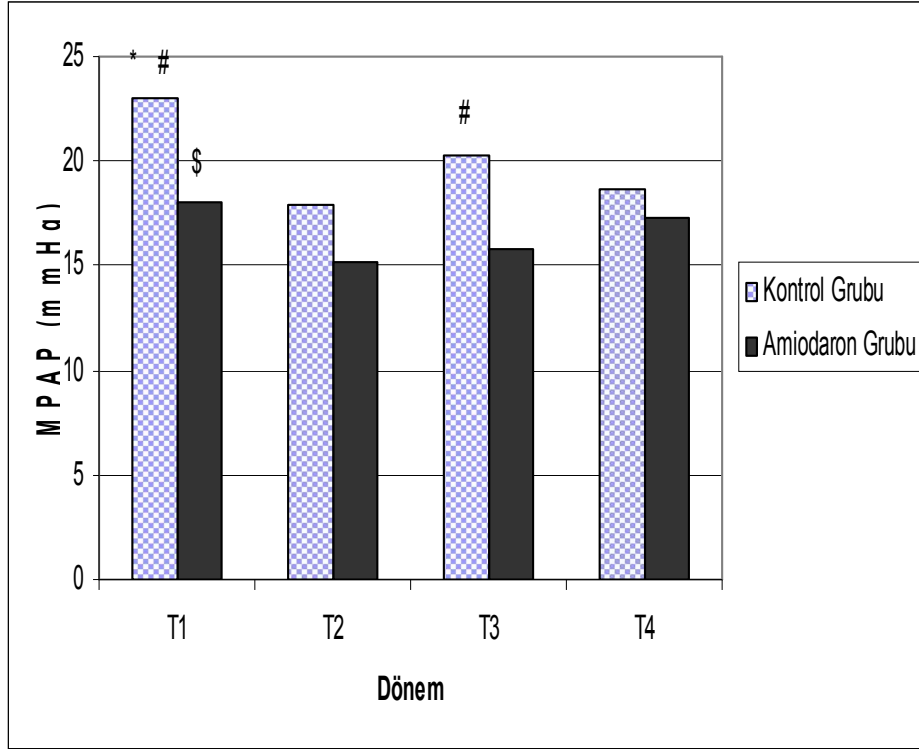
Şekil 5. Grupların ortalama kalp hızı (HR) değerleri

Grupların santral venöz basınç değerleri incelendiğinde amiodaron grubunda kontrol grubuna göre daha düşük basınçlar tespit edildi. Ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldıklarında ise anlamlı bir değişiklik saptanmadı (Şekil 6).



Şekil 6. Grupların santral venöz basınç (CVP) değerleri

Ortalama pulmoner arter basıncı (MPAP) değerleri kontrol grubunda amiodaron grubuna göre yüksek seyrederken T₁ ve T₃ dönemlerindeki değişiklik anlamlıydı (p<0.05). Gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde kontrol grubundaki T₁ değeri T₂ ve T₄ dönemine göre anlamlı olarak yüksekti. Amiodaron grubunda da T₁ değeri T₂'den anlamlı olarak yüksekti (p<0.05)(Şekil 7).



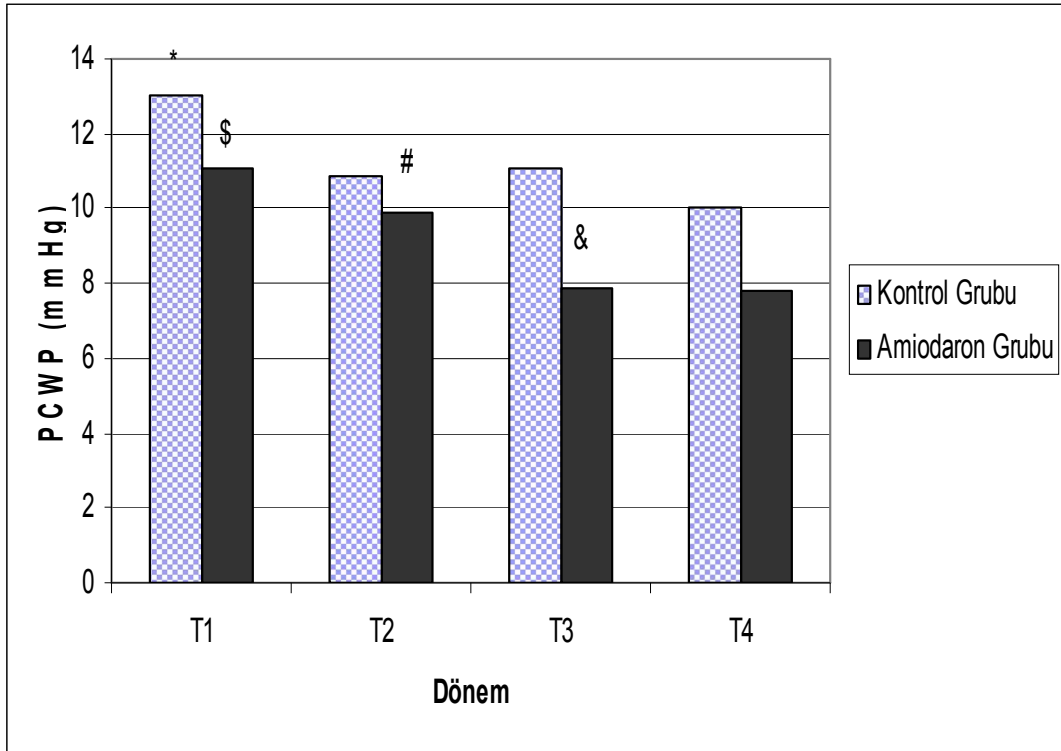
p<0.05 Kontrol grubu vs Amiodaron grubu, T₁ ve T₃

*p<0.05 T₁ vs T₂ ve T₄, Kontrol grubu

\$ p<0.05 T₁ vs T₂, Amiodaron grubu

Şekil 7. Grupların ortalama pulmoner arter basınç (MPAP) değerleri

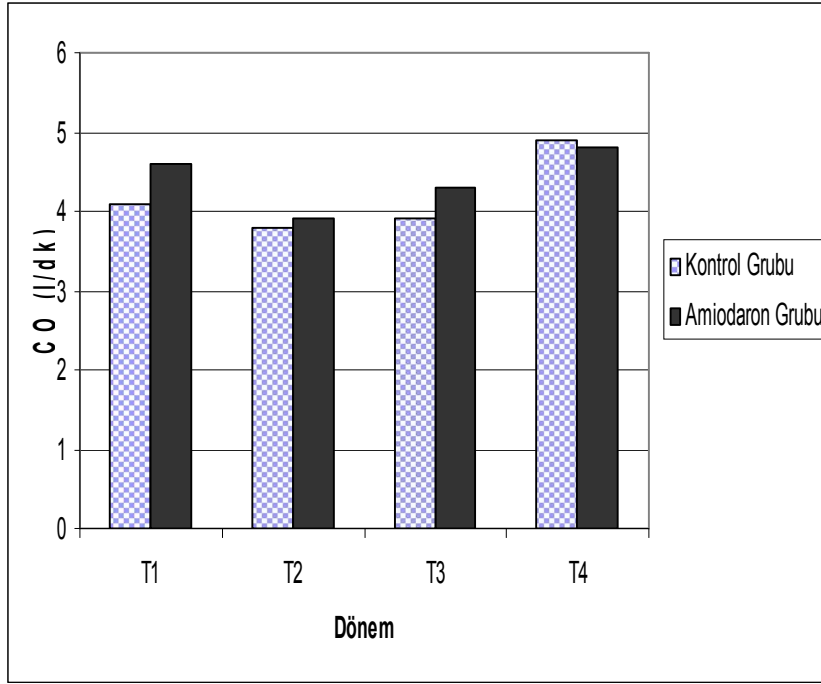
Pulmoner kapiller wedge basıncı (PCWP) ölçümleri amiodaron grubunda kontrol grubuna göre daha düşük seyrederken sadece T₃ dönemindeki değişiklik anlamlıydı (p<0.05). Kontrol grubunda T₁ değeri, T₃ ve T₄ değerine göre anlamlı olarak yüksek bulunurken amiodaron grubunda da T₁ basıncı T₃ ve T₄ basıncından, T₂ basıncı da T₃ basıncından anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0, 05) (Şekil 8).



* $p < 0.05$ T₁ vs T₃ ve T₄, Kontrol grubu
 \$ $p < 0.05$ T₁ vs T₃ ve T₄, Amiodaron grubu
 # $p < 0.05$ T₂ vs T₃, Amiodaron grubu
 & $p < 0.05$ Amiodaron vs Kontrol grubu, T₁'de

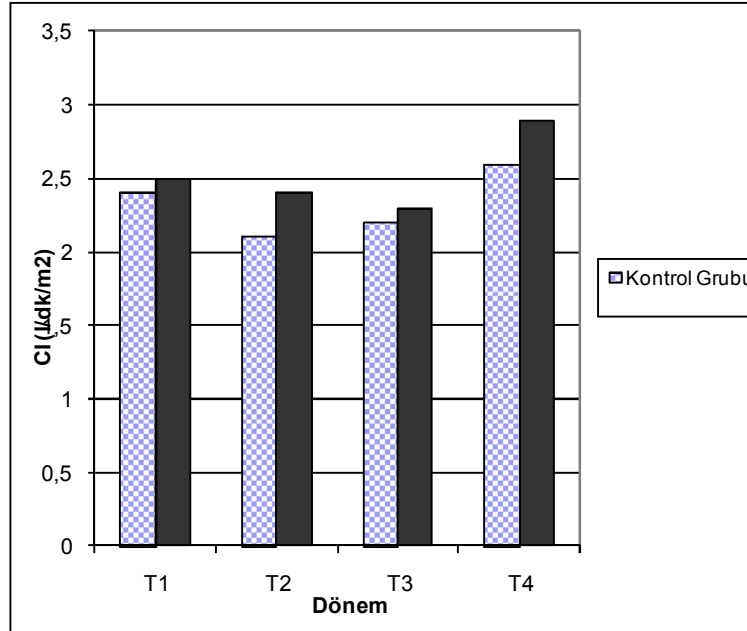
Şekil 8. Grupların ortalama pulmoner kapiller wedge basınç (PCWP) değerleri

Grupların kardiyak output ölçümlerinde bütün dönemlerde iki grup arasında istatistiksel anlamlı farklılığın olmadığı görüldü. Her iki grupta da T₂ ve T₃ döneminde yapılan CO ölçümleri, T₁ dönemine göre düşük ölçülürken istatistiksel olarak anlamlı değildi. Her iki grupta da T₄ döneminde yapılan ölçümler, T₁ döneminden istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir şekilde yüksek bulundu.



Şekil 9. Grupların ortalama kardiyak output (CO) değerleri

Kardiyak indeks (CI) değerleri iki grup arasında anlamlı bir farklılık göstermedi. Her iki grupta da T₂ ve T₃ değerleri T₁'den düşük seyrederken T₄ döneminde ölçülen CO değeri de T₁'den yüksekti. Bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Şekil 10).



Şekil 10. Grupların kardiyak indeks (CI) değerleri

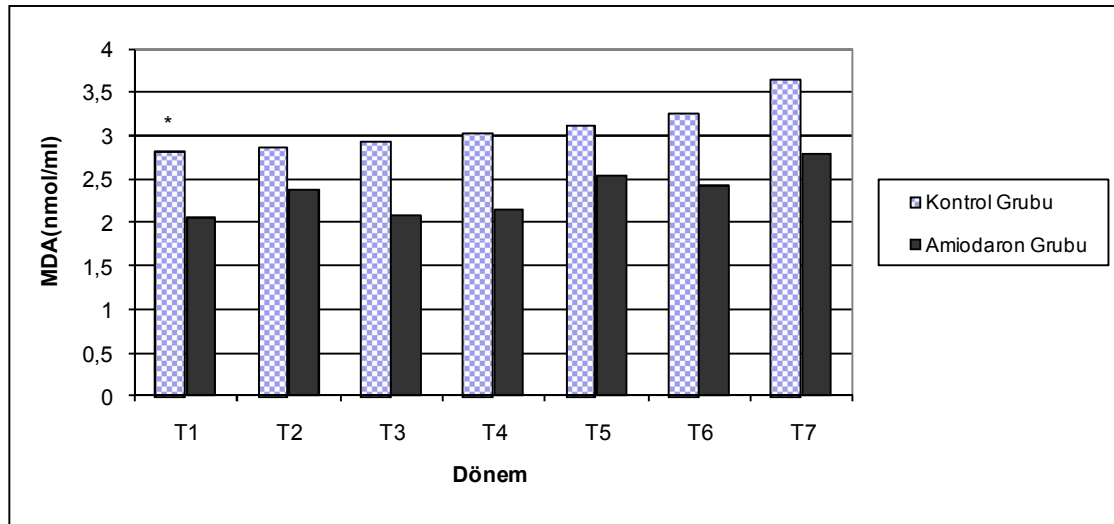
3.2. Biyokimyasal verilerin değerlendirilmesi

3.2.1. Serum malondialdehit(MDA) aktivitesinin değerlendirilmesi

Tüm dönemlerde amiodaron alan grupta daha düşük MDA seviyeleri tespit edildi ancak anlamlı değildi (Tablo 6). Dönemler ilerledikçe MDA değerinin arttığı ve bu artışın amiodaron alan grupta kontrol grubuna göre daha az olduğu görüldü. Gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında yalnızca kontrol grubunda T₁ dönemi ile T₇ arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı($p<0.05$) (Şekil 11).

Tablo 6. Grupların MDA değerleri

		Kontrol grubu	Amiodaron grubu	p
MDA (nmol/ml)	T ₁	2.81±1.12	2.06±0.98	0.459
	T ₂	2.87±0.80	2.39±0.98	0.246
	T ₃	2.92±2.74	2.09±0.84	0.370
	T ₄	3.01±2.18	2.14±0.89	0.250
	T ₅	3.12±1.69	2.54±1.51	0.429
	T ₆	3.25±1.92	2.43±0.60	0.213
	T ₇	3.65±1.67	2.80±0.82	0.170



* $p<0.05$ T₁ vs T₇, Kontrol grubu

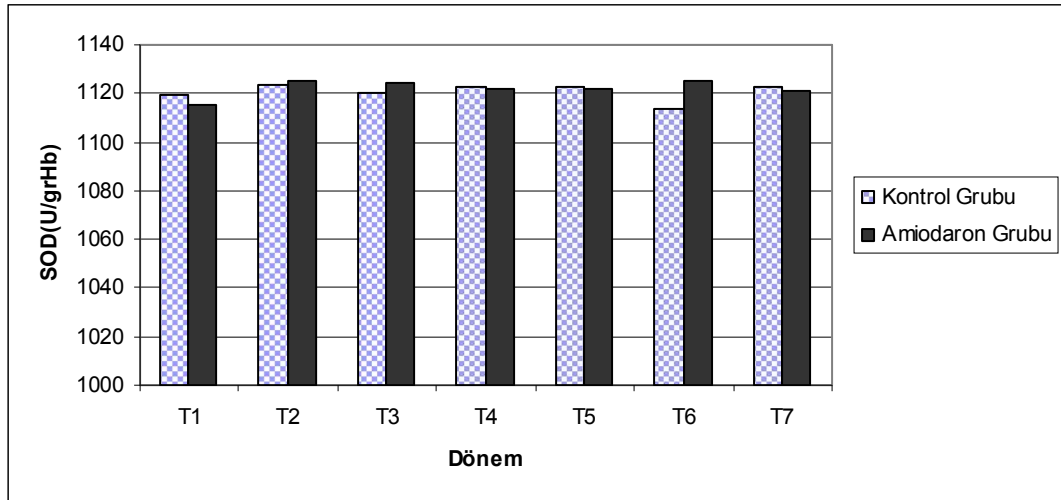
Şekil 11. Grupların malondialdehit (MDA) düzeyleri

3.2.2. Eritrosit süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin değerlendirilmesi

Süperoksit dismutaz(SOD) değerleri her iki grupta da benzerdi (Tablo 7). Her iki grup arasında ve grupların kendi aralarında karşılaştırılmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Şekil 12).

Tablo 7. Grupların süperoksit dismutaz (SOD) değerleri

		Kontrol grubu	Amiodaron grubu	p
SOD (U/grHb)	T ₁	1119.10±20.59	1115.00±17.28	0.635
	T ₂	1123.37±5.21	1125.12±14.15	0.718
	T ₃	1120.58±6.28	1123.96±9.74	0.369
	T ₄	1122.93±7.09	1122.14±2.91	0.750
	T ₅	1122.76±6.31	1121.67±4.46	0.659
	T ₆	1113.31±16.80	1125.28±18.93	0.152
	T ₇	1122.97±6.79	1120.75±5.92	0.447



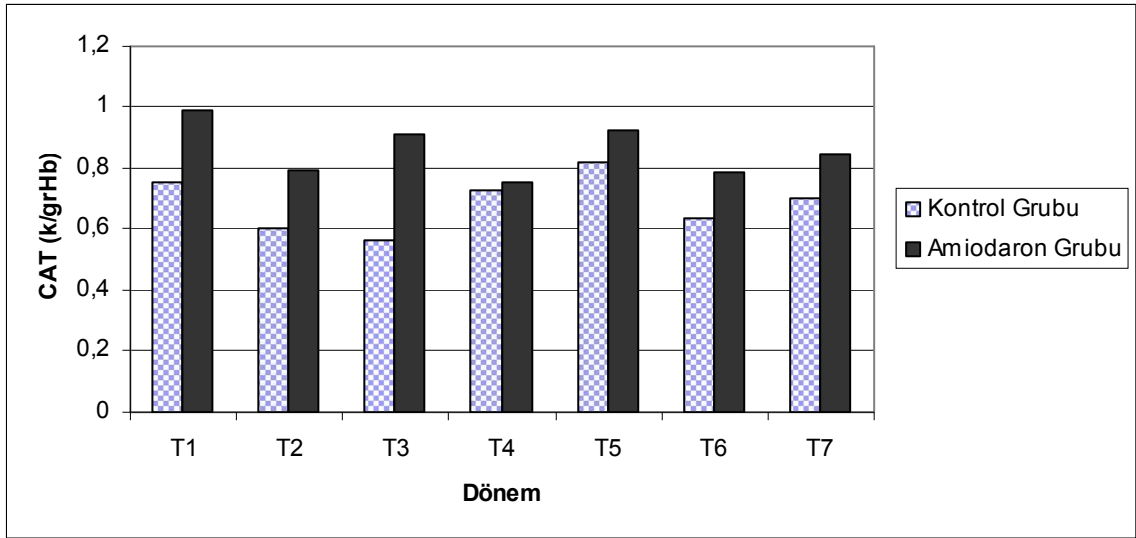
Şekil 12. Grupların süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri

3.2.3. Eritrosit katalaz (CAT) aktivitesinin değerlendirilmesi

Amiodaron alan grupta bütün dönemlerde kontrol grubuna göre daha yüksek katalaz değerleri ölçüldü ancak anlamlı değildi (Tablo 8). Her grup kendi içinde değerlendirildiğinde dönemler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Şekil 13).

Tablo 8. Grupların katalaz (CAT) değerleri

		Kontrol grubu	Amiodaron grubu	p
CAT (k/grHb)	T ₁	0.757±0.282	0.988±0.566	0.263
	T ₂	0.606±0.364	0.791±0.446	0.324
	T ₃	0.563±0.326	0.911±0.485	0.076
	T ₄	0.725±0.255	0.753±0.645	0.900
	T ₅	0.820±0.481	0.926±0.550	0.652
	T ₆	0.636±0.234	0.785±0.474	0.385
	T ₇	0.702±0.95	0.848±0.653	0.507



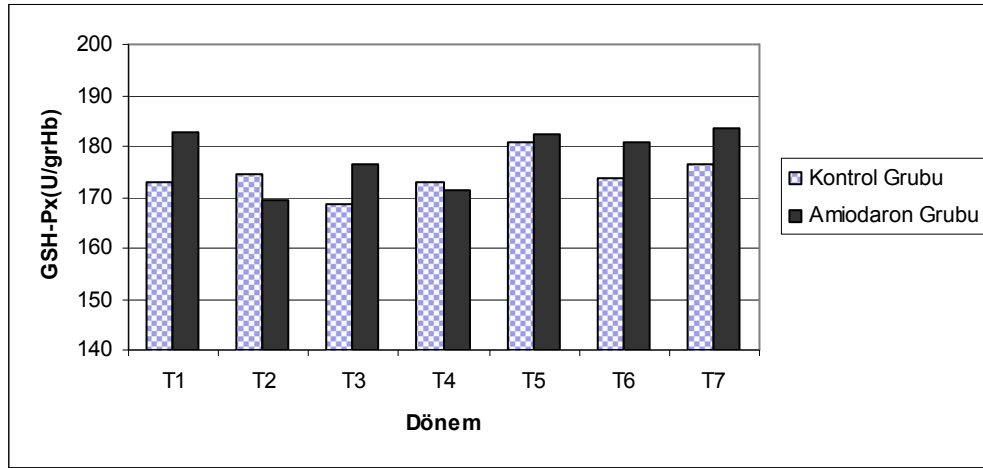
Şekil 13. Grupların katalaz (CAT) düzeyleri

3.2.4. Eritrosit glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin değerlendirilmesi

Her iki grup karşılaştırıldığında ve kendi aralarında değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 9).

Tablo 9. Grupların glutatyon peroksidaz (GSH-Px) değerleri

		Kontrol Grubu	Amiodaron Grubu	p
GSH-Px (U/grHb)	T ₁	172.83±39.61	182.85±30.53	0.222
	T ₂	174.32±30.54	169.24±34.00	0.227
	T ₃	168.80±18.05	176.39±31.85	0.206
	T ₄	173.06±23.59	171.40±26.67	0.884
	T ₅	180.95±15.86	182.41±29.08	0.968
	T ₆	173.62±37.43	180.69±24.69	0.624
	T ₇	176.66±19.93	183.61±39.92	0.179



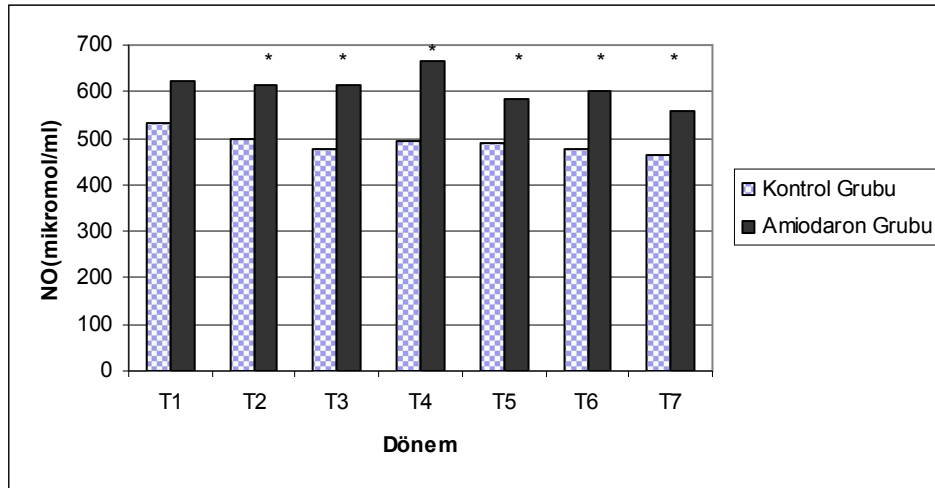
Şekil 14. Grupların glutatyon peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri

3.2.5. Plazma nitrik Oksit (NO) aktivitesinin değerlendirilmesi

Tüm dönemlerde amiodaron grubunda kontrol grubuna göre yüksek NO düzeyleri saptanırken, bunlardan T₁ dönemi hariç tüm dönemlerde yapılan ölçümler anlamlıydı $p < 0.05$ (Tablo 10). Gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Şekil 15).

Tablo 10. Grupların nitrik oksit (NO) değerleri

		Kontrol grubu	Amiodaron grubu	p
NO (μmol/ml)	T ₁	534.38 $\pm$ 125.06	620.87 $\pm$ 139.83	0.162
	T ₂	498.24 $\pm$ 114.87	614.07 $\pm$ 94.99	0.024
	T ₃	476.91 $\pm$ 38.48	613.08 $\pm$ 170.95	0.024
	T ₄	493.89 $\pm$ 83.05	666.30 $\pm$ 184.06	0.015
	T ₅	488.04 $\pm$ 98.91	585.64 $\pm$ 86.61	0.031
	T ₆	474.99 $\pm$ 80.94	601.24 $\pm$ 78.55	0.002
	T ₇	463.35 $\pm$ 60.75	556.90 $\pm$ 80.77	0.010



* P<0.05 Amiodaron grubu vs Kontrol grubu, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆, T₇'de

Şekil 15. Grupların nitrik oksit (NO) düzeyleri

4.TARTIŞMA

Bir organı besleyen arterlerde kan akımının kısmen veya tamamen kesilmesi sonucu iskemi tablosu oluşmaktadır. İskemiye uğramış bölgedeki hücreler aerobik metabolizmayı sağlayamadıkları için gerekli enerjiyi anaerobik yolla sağlamaya çalışırlar. Anaerobik metabolizma sonucu oluşan metabolitler doku perfüzyonu kesildiği için dokuda birikir. Kan akımının yeniden sağlanmasıyla biriken bu metabolitlerin oksidasyonu sonucu oluşan maddeler sistemik dolaşıma karışır ve tüm vücuda yayılırlar. Reperfüzyonla oluşan hasarın büyüklüğü iskemi süresi ve şiddeti ile ilişkilidir. Kısa süreli iskemilerde reperfüzyon hasarı daha hafif olurken, iskemi süresinin uzaması durumlarında reperfüzyon, hücre kaybını engelleyemeyebilir. Anjina pectoris, miyokard infarktüsü, anjioplasti, trombotik stroke, periferik arterlerde gelişen tromboembolik olaylar, kardiyak cerrahi girişim ve organ transplantasyonları gibi birçok olayda iskemi reperfüzyon hasarı kaçınılmazdır. Reperfüzyon hasarı üzerine ilk çalışma 1973 yılında Hearse ve ark. (92) tarafından yapılmıştır. Burada iskemik rat kalplerinde oksijene bağımlı enzim salınımının reperfüzyon hasarında önemli rolü olduğu belirtilmiştir. Bulkley ve Hutchins (93) 1977 yılında koroner bypass cerrahisiyle sağlanan başarılı bir revaskülarizasyonun ardından gelişen miyokardiyal nekroz çelişkisini bildirmiştir

CPB ile yapılan CABG sırasında aortun klemplenmesini takiben myokard global bir iskemiye uğramaktadır. Her ne kadar kardioplejik solüsyonlar ile kalp arrest edilip metabolizması ve enerji gereksinimi azaltılsa da myokardda iskemi oluşmaktadır. Bu iskemi, özellikle kritik darlığı olan koroner arterlerden beslenen alanlarda daha belirgindir. Aorttaki klempin kaldırılmasıyla birlikte, kalp sistemik dolaşım ile tekrar perfüze olduğunda myokardda morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal olarak gösterilen hücresel hasar meydana gelir. Reperfüzyon hasarının tipik sonuçları intraselüler enzimlerin salınımı, kalsiyumun hücre içine girişi, kalsiyum hemostazındaki değişiklikler ve hücre membranında ayrışma sonucu sarkolemmal fosfolipidlerin parçalanmasıdır. Bu son olay ölümcül reperfüzyon hasarı olup hücre ve doku nekrozu gelişir (94).

İskemik kalp hastalığının patofizyolojisinde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (95). Oksijen radikalleri kontraktıl disfonksiyonu ve yapısal

hasarı bulunan myokard dokusunda olumsuz etkiler gösterir (96). Ek olarak, vasküler endotel hücrelerini hasarlandırabilirler. Bundan dolayı, oksijen radikalleri tarafından hasarlandırılan myokard dokusu kalp yetmezliğinin progresyonuna neden olabilir.

CPB uygulanan hastalarda değişik myokardial koruma yöntemlerine rağmen sintigrafik çalışmalarla da belirlenen sol ventrikül duvar hareketlerinde geçici bir azalma gözlenmektedir (97). Çalışmamızda da hem kontrol hemde amiodaron grubunda T₂ (CPB öncesi) ve T₃ (protamin infüzyonu sonrası) döneminde kardiyak output ve kardiyak indeks değerleri, T₁ (anestezi indüksiyonu öncesi) dönemine göre düşerken postoperatif 24. saatte normale dönmüştür. İskemik sahaya oksijenin tekrar sağlanması sonucu oluşan toksik maddelerden en önemlileri serbest oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri tüm aerobik hücrelerde oluşan, moleküler oksijen ve onun parçalarını içeren moleküllerdir. SOR miktarındaki aşırı üretim antioksidan savunma sistemleri tarafından ortadan kaldırılmaya çalışılmaktadır. Burada antioksidan savunma sistemleri yeterli olur ve SOR düzeyi azaltılırsa meydana gelecek hasar da aynı oranda az olacaktır. Buna karşılık oluşan SOR miktarı fazla ve antioksidan savunma sistemleri yetersizse reperfüzyon hasarı daha şiddetli olmaktadır. Reperfüzyon hasarında “serbest oksijen radikalleri” hipotezi, hem direkt hem de indirekt kanıtlarla desteklenerek geniş ölçüde tanımlanmıştır. Kardiyomyositlerdeki kalsiyum yüklenmesi ve sarkolemmal fosfolipid değişiklikleri, membran hasarının temel fazını oluşturur. Ölçülebilen değişiklikler hidroksil radikali tespiti, lipid endoperoksitleri, lipid hidroksi peroksitleri ve konjuge dienlerin oluşumu gibi lipid oksidasyonudur. Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) seviyesinin kanda ölçülmesi reperfüzyon şiddetinin iyi bir göstergesidir. Oksidan moleküller organizmada sürekli bir oluşum ve antioksidanlar tarafından sürekli bir etkisizleştirilme süreci içindedirler. Serbest radikallerin ve antioksidanların düzeyleri arasındaki hassas denge korunamadığı takdirde hücre kaybına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkmaktadır (98). Oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde bulunan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) enzimleri serbest oksijen radikallerinin hasarına karşı en önemli defans mekanizmalarını oluştururlar. SOD enzimi, toksik süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırarak, potansiyel zararlı etkilere karşı savunmada çok önemli bir rol oynar.

Normal koşullarda hücrelerde bulunan hidrojen peroksit ve diğeri peroksitlerin yıkımını katalize eden GSH-Px, lipid peroksidasyonunun başlaması ve gelişmesini engelleyen önemli bir enzimdir. Ancak yüksek konsantrasyonlardaki hidrojen peroksitin detoksifikasyonunu esas olarak CAT üstlenmektedir (99).

Plazmada üretilen ve eritrosit hücre membranını geçebilen hidrojen peroksit ve süperoksit iyonları eritrositlerde toplanır. Bu açıdan eritrositler önemli bir radikal havuzu olup, hidrojen peroksitin detoksifikasyonu için GSH-Px ve CAT, süperoksit anyon radikallerinin dismutasyonu için SOD ile Vitamin A, E, C gibi hücre içi antioksidan defans sistemleri devreye girerek daha toksik hidroksil radikallerinin oluşması engellenir (100). Eritrositlerde ve homojenize edilmiş doku örneklerinde SOD, CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerine bakılarak organizmanın oksidatif stresten ne düzeyde etkilendiğı hakkında fikir elde edilebilir.

Tripathi ve arkadaşlarının (101) köpekler üzerinde yaptıkları çalışmalarında myokard iskemisi sonrası lipid peroksidasyonunda artma ile SOD ve GSH-Px aktivitesinde azalma bulmuşlar ve bu sonuçları reperfüzyon hasarında SOR'ların önemli katkısı olduğu şeklinde yorumlamışlardır

Son zamanlarda hayvan modeli kullanılarak yapılan genetik mühendisliğı çalışmaları SOD'un iskemi-reperfüzyon hasarına karşı myokardı korumadaki rolü ortaya konulmuştur. Bununla birlikte SOD için, myokard iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyuculuğı hakkında tartışmalı sonuçlar da rapor edilmiştir. Dhalla ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada ise rat kalbinde 60 dakikalık iskemi takiben reperfüzyon sonucunda, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz aktiviteleri yüksek bulunurken, Cu ve Zn-SOD aktivitesinde değışiklik gözlenmemiştir (9). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da SOD değıerleri kontrol ve amiodaron grubunda benzer bulunmuş olup dönemler arasında da anlamlı bir değışiklik gözlenmemiştir.

Glutatyon peroksidazın myokard iskemi reperfüzyon hasarındaki etkilerini araştıran çalışmalarda gösterilmiştir ki, GSH-Px myokard kontraktıl fonksiyonunda düzelme sağlamaktadır. Dietilester maleik asit veya bution sülfoksimin gibi GSH-Px inhibitörleri kullanıldığında, izole rat kalplerinde kontraktılite bozukluğı oluşmaktadır (9). Yoshida ve arkadaşları (102) rat kalplerinde yaptıkları deneysel çalışmaları myokard iskemi reperfüzyon hasarına karşı GSH-Px'in, sol ventrikül

kontraktilite fonksiyonlarının korunmasında, kreatin kinaz salınımını ve infarkt alanının azalmasında önemli rol oynadığı sonucuna varmışlardır. Bu nedenle endojen GSH-Px aktivitesinin artması, iskemi reperfüzyon hasarına karşı istenen bir durumdur. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise amiodaron GSH-Px üzerine anlamlı bir etki oluşturmamıştır.

Nitrik oksit ile myokard iskemi reperfüzyon ilişkisi üzerine yapılmış çalışmalarda, nitrik oksit sentetaz enziminin reperfüzyon ile birlikte sinyal transdüksiyonu ile aktive olduğu bulunmuştur (103). Saniyeler içinde gelişen bu durum, dakikalar içinde tersine döner ve koroner endotelden NO salınımı azalmaya başlar. Trombosit agregasyonunu ve degranülasyonunu inhibe eden, aktif endotelden, lökositlerden ve myositlerden adhezyon moleküllerinin salınmasını önleyen NO, direkt nötrofil membranına bağlı NADPH oksidaza etki göstererek, oksijen radikali üretimini de azaltır, ayrıca nötrofiller ile ilişkili myokard kontraktilite bozukluğunu da azaltır (104).

Becker ve ark. (105) koroner bypass cerrahisinde nitrik oksitin, reperfüzyon hasarına karşı myokard korunmasına olan etkisini araştırdıkları çalışmalarında ACE inhibitörü ile endojen NO düzeyini (bradikinin aracılığı ile) yükseltmişler, düşük doz sodyum nitroprussid vererek de eksojen NO sağlamışlardır. Çalışma sonunda NO'nin lökosit adhezyonunu inhibe ettiğini, trombosit aktivasyonunu azalttığını, böylece redoks stresin ve inflamasyonun sınırlı kaldığını belirtmişlerdir.

Siegfried ve ark. (106) deneysel felin iskemi reperfüzyon modelinde, bir NO donörü (C87-3754) kullanmışlar ve myokardda nekrotik alan/risk alanı oranında ve asetil koline relaksasyon ile gösterilen endotel disfonksiyonunda anlamlı azalma tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar nitrik oksitin myokard iskemi reperfüzyon hasarını azaltması bakımından önemlidir.

İskemi reperfüzyona bağlı myokardiyal hasarlanmanın patogenezinde serbest oksijen radikallerinin aşırı üretimi ve antioksidan enzimlerin rolünün belirlenmesi, eksojen antioksidan ve serbest radikal temizleyici tedavi denemelerini gündeme getirmiştir (107). Bununla birlikte iskemi reperfüzyon hasarından myokardı korumak için çeşitli ilaçlar kullanılmıştır. Bunlar kalsiyum kanal blokerleri, NO donerleri, Adenozin, Na⁺/H⁺ değiştirici inhibitörleri (cariporide), Glutamat, Aspartat, Aprotinin, Metilprednisolon, ATP duyarlı potasyum kanal açıcıları (pinacidil), ACE

inhibitörleri, Glukoz – insülin - potasyum solüsyonları, C1 esteraz inhibitörü ve endotelin- 1 reseptör antagonisti (Bosentan)’dir. Kroner ve ark. (64) Diltiazem’in İR oluşturulan tavsan kalbinde mitokondriyal bütünlüğü ve fonksiyonları koruduğunu göstermişlerdir. GUARDIAN çalışmasında da yüksek riskli CABG cerrahisi geçiren hastalarda cariporide’in kardiyoprotektif olduğu ileri sürülmüştür (65). Adenozin reseptör agonistleri serbest radikal üretimi ve nötrofil fonksiyonlarının inhibisyonundan sorumlu görünür (70). Adenozin, aynı zamanda mitokondriyal ATP duyarlı potasyum kanallarını açarak anti iskemik etkiye sahiptir. Bir ACE inhibitörü olan Quinapril’in, iskemi reperfüzyondaki rat kalbinde, miyokardiyal apoptozisde inhibisyon etkisi gösterilmiştir (71). Fitch ve ark. (72) CABG geçiren hastalara insan anti-C5 antikoru verildiği zaman, postoperatif miyokardiyal injüri, kavramsal zarar ve kan kaybının azaldığını göstermişlerdir. Endotelin-1 reseptör antagonisti olan bosentan, Hipoksik miyokardın reoksijenizasyonu sırasında, apoptotik miyosit sayısını azaltır ve miyokardın fonksiyonel iyileşmesini düzeltir (73). Aprotinin (Trasylol) non-spesifik serin proteaz inhibitörü olup kalp cerrahisine eşlik eden kan kaybını azaltmak için kullanılır. Anti-inflamatuar özellikleri vardır. İR hasarından korumayı sağlayabilir. Ratlarda yapılan bir çalışmada, miyokardiyal İR’da sistolik fonksiyonları koruduğu, apoptozisi azalttığı ortaya konmuştur (76).

Son çalışmalar, amiodaronun kalp yetmezliği olan hastalarda sol ventrikül fonksiyonlarını ve klinik durumu düzelttiğini göstermiştir (108). Kalp yetmezliği olan veya MI sonrası yaşayan hastalarda, amiodaron total mortalite oranlarını ve aritmik/ani ölüm oranlarını azaltır (109). Bu durum bazı antiaritmik ajanlarla açık bir şekilde tezat oluşturmaktadır. Bu tip ilaçlar dikkatli değerlendirilmiş yüksek riskli hastaların randomize çalışmalarında mortalite oranlarını yükseltmiştir (109). Bu ciddi klinik faydalar, amiodaronu kalp yetmezliğinin rutin tedavisinde tercih edilen antiaritmik ajan sınıfına sokmaktadır (110).

Ide ve ark. (89), köpek sol ventrikül serbest duvarından izole ettikleri kardiyak myozitleri, invert mikroskopun kamerasına yayıp oksijene krebs tamponu ile süperfüze edip amiodaron ve diğer test ilaçlarını 15 dk boyunca inkübe etmişlerdir. İn vitro elektron paramanyetik rezonans (EPR) spektroskopisi kullanarak yaptıkları bu çalışmada amiodaronun in vitro şartlarda oksijen radikallerini direkt

olarak giderebileceğini ve hidroksil (OH[•]) radikalleri tarafından oluşturulan kardiyak miyozit hasarına karşı koruyucu etkisi olduğunu bulmuşlardır.

Amiodaronun antienflamatuar ve antioksidan özelliklerini araştıran deneysel bir çalışmada (111) carrageenan ile ratlarda pençe ödemi oluşturulmuş, 25, 50 ve 100 mg/kg dozlarında uygulanan amiodaron, sırasıyla %65.3, %71.2 ve %86.5 oranlarında ödemi azaltmış ve antiinflamatuar etkisi diklofenaktan daha yüksek bulunmuştur.

Ribeiro ve ark. (90) ise amiodaronun antioksidan enzimler, lipid peroksidasyonu ve mitokondri metabolizması üzerine yapmış oldukları bir çalışmada, amiodaronun süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını ileri sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda da amiodaron'un süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri üzerine anlamlı bir etkisi bulunmamıştır. Diğer yandan bu çalışmada amiodaron NADH oksidasyonunda istatistiksel anlamlı derecede inhibisyona neden olduğu ve mitokondriyal membranlarda demire bağımlı bir sistemle lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu olduğu bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da benzer bir şekilde amiodaron alan grupta tüm dönemlerde lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan malondialdehit seviyeleri düşük çıkmıştır.

Son yıllarda lipoprotein oksidasyonunun aterogeneze önemli bir rolü olduğunu gösteren veriler artmıştır(112). Amiodaronun kobay karaciğerinde mikrozomal lipid peroksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Bu antioksidan etki kuvvetle lipofilik etkisiyle ilişkilidir (113). Bu bakış açısıyla hidrofobik bileşiklerin, yüksek lipofilik özelliklerinden dolayı lipoperoksidasyonda inhibitör etki gösterdikleri bilinmektedir (114). Lapenna ve ark. (115) yapmış olduğu, insanda amiodaronun lipoprotein oksidasyonu üzerine etkilerini inceleyen toplam yedi hastaya bir hafta boyunca günde iki kez 400 mg ve ardından üç hafta boyunca günde 200 mg oral amiodaron verdikleri çalışmalarında, amiodaronun dozla ilişkili şekilde lipoprotein oksidasyonunu inhibe ettiğini bulmuşlardır. Amiodaron metaboliti olan desetilamiodaronun da lipoprotein oksidasyonunu amiodarondan daha zayıf bir şekilde inhibe etmiştir. IC₅₀ değeri baz alındığında amiodaron propranololden 50 kat

daha etkin ancak probucol'den daha az etkili bulunmuştur. Bu çalışmada ayrıca amiodaronun antioksidan etkisinin vit E' ye yakın olduğu tespit edilmiştir.

Amiodaron ile NO arasındaki ilişkiyi inceleyen, Kishida ve arkadaşlarının (116) yapmış olduğu bir çalışmada amiodaron'un insan endotelial hücrelerde endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) aracılığı ile NO üretimini arttırdığı bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da T₁ (anestezi indüksiyonu öncesi) dönemi hariç tüm dönemlerde amiodaron alan grupta NO seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış bulundu.

Sonuç olarak tüm dönemlerde amiodaron alan grupta daha düşük malondialehit (MDA) seviyeleri tespit edildi ancak anlamlı değildi. Amiodaron katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleri üzerine anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. T₁ dönemi hariç tüm dönemlerde nitrik oksit (NO) seviyesi amiodaron grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p<0.05$). Çalışmamızda amiodaron'un antioksidan özelliği tam olarak ortaya konamamıştır. Ancak kalp cerrahisinde rutin kullanılan amiodaron'un teröpatik dozlarıyla elde ettiğimiz yüksek NO düzeyleri, amiodaron'un iskemi sonrası reperfüze edilen kalplerde olumlu etkisinin olabileceğini göstermiştir. Amiodaron'un antioksidan özelliklerinin tam olarak ortaya çıkarılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Hung LM, Chen JK, Huang SS, Lee RS, Su MJ. Cardioprotective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. *Cardiovascular Research* 2000; 47: 549-555.
2. Carmeliet E. Cardiac ionic currents and acute ischemia: from channels to arrhythmias. *Physiological Reviews* 1999; 79: 917-1017.
3. Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. *British Journal Of Surgery* 1994; 81: 637-647.
4. Jeroudi MO, Hartley CJ, Bolli R. Myocardial reperfusion injury: role of oxygen radicals and potential therapy with antioxidants. *Am J Cardiol* 1994; 73: 2-7.
5. Li C, Jackson RM. Reaktive species mechanism of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 282: 227-241
6. Park JL, Lucchesi BR. Mechanisms of Myocardial reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1999; 64: 24-30.
7. Mc Cord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *New Engl J Med* 1985; 312: 159-163.
8. Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: a double-edged sword. *J Clin Invest* 1985; 76: 1713-1719.
9. Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovascular Research* 2000; 47: 446-456.
10. J. Dzierzkowska A, Witanowska E, Wojtcka-Lukasi T, Dron J. Are histamine H-1 receptors involved in ischemia-reperfusion injury in rat heart? *Journal Of Physiology And Pharmacology* 1994; 45: 493-499.
11. Gross GJ, Kersten JR, Warltier DC. Mechanisms of postischemic contractile dysfunction. *Ann Thorac Surg* 1999; 68: 1898-1904.

12. Jordan JE, Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. The role of neutrophils in myocardial ischemia- reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 1999; 43: 860-878.
13. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000; 190: 255-266.
14. Piper HM, Meuter K, Schafer C. Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 2003; 75: 644-648.
15. Reiter RJ, Tan DX, Kim SJ, Wenbo QI. Melatonin as a pharmacological agent against oxidative damage to lipids and DNA. *Proc West Pharmacol Soc* 1998; 41: 229-236.
16. Czyrko C, Steigman C, Turley DL, Drott HR, Ziegler M. The role of reperfusion injury in occlusive intestinal ischemia of the neonate: malonaldehyde derived fluorescent products and correlation of histology. *Journal Of Surgical Research* 1989; 51: 1-4.
17. Halliwell B. Superoxide, iron, vascular endothelium and reperfusion injury. *Free Radic Res Common* 1989; 5: 315-318.
18. Harman AW, Maxwell MJ. An evaluation of the role of calcium in cell injury. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1995; 35: 129-144.
19. Murphy E, Aitcon JF, Horres CR, Lieberman M. Calcium elevation in cultured heart cells; its role in cell injury. *Am J Physiol* 1983; 245: 316-321.
20. Fontana L, Giagulli C, Minuz P, Lechi A, Laudanna C. 8-iso-PGF(2 α) induces beta(2)-integrin-mediated rapid adhesion of human polymorphonuclear neutrophils: a link between oxidative stress and ischemia/reperfusion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 55–60.
21. Frangiogiannis NG, Lindsey ML, Michael LH. Resident cardiac mast cells degranulate and release preformed TNF- α , initiating the cytokine cascade in experimental canine myocardial/reperfusion. *Circulation* 1998; 98: 699–710.

22. Zhao ZQ, Nakamura M, Wang NP. Reperfusion induces myocardial apoptotic cell death. *Cardiovasc Res* 2000; 45: 651–660.
23. Kowaltowski AJ, Vercesi AE. Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 463–471.
24. Clancy RM, Leszczynska-Piziak J, Abramson SB. Nitric oxide, an endothelial cell relaxation factor, inhibits neutrophil superoxide anion production via a direct action on the NADPH oxidase. *J Clin* 1992; 90: 1116–1121.
25. Wildhirt SM, Weismueller S, Schulze C, Conrad N. Inducible nitric oxide synthase activation after ischemia/reperfusion contributes to disorders to myocardial dysfunction and extent of infarct size in rabbits: evidence for a late phase of nitric oxide-mediated reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 1999; 43: 698–711.
26. Lucchesi BR. Modulation of leukocyte-mediated myocardial reperfusion injury. *Annu Rev Physiol* 1990; 52: 561-576.
27. Ceconi C, Bernocchi P, Boraso A. New insights on myocardial pyridine nucleotides and thiol redox state in ischemia and reperfusion damage. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 586- 594.
28. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg*. 1991; 161: 488-503.
29. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc*. 1988; 63: 381-389.
30. Brent JA, Rumack BH. Role of free radicals in toxic hepatic injury. I. Free radical biochemistry. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1993; 31: 139-171.
31. Aybey B, Tufan H, Ergenekon G. Serbest radikaller. *Türkderm* 1996; 30: 116-122.

32. Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Method Enzymol* 1994; 1986: 1-85.
33. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Second edition, Clarendon Pres, Oxford 1989.
34. Kılınç K. Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biyokimya Dergisi* 1985; 10: 60-89.
35. Davies MG, Fulton GJ, Hagen PO. Clinical biology of nitric oxide. *Br J Surg* 1995; 82: 1598-1610.
36. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya, Mimoza yayınları 1995; 3-95.
37. Ergin Ş, Baysal V. Serbest radikaller ve deri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 1997; 13: 213-218.
38. Karwatowska P-E, Czarnowska E, Beresewicz A. Iron availability and free radical induced injury in the isolated ischaemic/reperfused rat heart. *Cardiovascular Research* 1992; 26: 58-66.
39. Rice-Evans CA, Diplock AT, Symons MCR. Techniques in free radical research. In: laboratory techniques in biochemistry and molecular biology (Burdon RH, Van Knippenberg PH). Elsevier New York 1991; 1-50.
40. Karakaya D, Barış S, Tür A. Nitrik oksit. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2000; 17: 139-148.
41. Grisham MB. Potential role of nitric oxides in pathophysiology. In biology and medicine 1992; 76-84.
42. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J* 1994; 6: 3051-3064.
43. Çakmakçı M. Nitrik oksit “toksik molekülünden iletişim ve savunmanın vazgeçilmez medyatörüne”. *Hacettepe Tıp Dergisi* 1996; 27: 79-84.

44. Schulz R, Wambolt R. Inhibition of nitric oxide synthase protects the isolated working rabbit heart from I/R injury. *Cardiovasc Res* 1995; 30: 432-439.
45. Koşay S. Nitrik oksitin hastalıklardaki fizyopatolojik rolü. *Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Aydın Kitabı Dergisi* 1996; 83: 1-89.
46. Köse K, Doğan P. Lipid peroksidasyonu. *Erciyes Tıp Dergisi* 1992; Ek-1: 340-350.
47. Winrow VR, Winyard PG, Morris CJ, Blake DR. Free radicals in inflammation: second messengers and mediators of tissue destruction. *Br Med Bull* 1993; 49: 506-522.
48. Yılmaz S, Üstündağ B. İnsüline bağlı diabetes mellituslu hastalarda plazma lipid peroksit seviyeleri ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz aktivitesi. *Erciyes Tıp Dergisi* 1999; 21: 150-154.
49. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-426.
50. Erenel G, Erbaş D, Arıcıoğlu A. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Dergisi* 1992; 3: 243-250.
51. Schiller HJ, Reilly PM, Bulkley GB. Tissue perfusion in critical illnesses. Antioxidant therapy. *Crit Care Med* 1993; 21: 92-102.
52. Ilizarov AM, Koo HC, Kazaz JA, Mantell LL, Li Y, Bhapat R. Overexpression of manganese superoxide dismutase protects lung epithelial cells against oxidant injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 24: 436-441.
53. Kavas G. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri* 1999; 39: 270-274.
54. Kılınç K. Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksit dismutaz. *Biyokimya Dergisi* 1986; 11: 59-66.

55. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. Cerrahpaşa Tıp Dergisi 1996; 27: 41-50.
56. Konukoğlu D, Akçay T. Glutasyon metabolizması ve klinik önemi. T Klin Tıp Bil 1995; 15: 214-218.
57. Agar NS, Sadrzadeh SM, Hallaway PE, Eaton JW. Erythrocyte catalase. A somatic oxidant defense. J Clin Invest 1986; 77: 319-321.
58. Sorg O. Oxidative stres: a theoretical model or a biological reality? C R Biologies. 2004; 327: 649-662.
59. Biesalski HK, Frank J. Antioxidants in nutrition and their importance in the antioxidative balance in the immun system. Immun Infect 1995; 23: 166-173.
60. Bast A, Haenen GR, van den Berg R, van den Berg H. Antioxidant effects of carotenoids. Int J Vitam Nutr Res 1998; 68: 399-403.
61. Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, Kelly F, Cheeseman K, Mitchinson MJ. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioksidant Study (CHAOS) Lancet 1996; 347: 781-786.
62. Genova ML, Pich MM, Biondi A, Bernacchia A, Falasca A, Bovina C, et al. Mitochondrial production of oxygen radical species and the role of Coenzyme Q as an antioxidant. Exp Biol Med. 2003; 228: 506-513.
63. Frei B, Stocker R, Ames BN. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. Proc Natl Acad Sci USA. 1988; 85: 9748-9752.
64. Kroner A, Seitelberger R, Schirnhofner J, Bernecker O, Mallinger R, Hallstrom S, et al. Diltiazem during reperfusion preserves high energy phosphates by protection of mitochondrial integrity. Eur J Cardiothorac Surg 2002; 21: 224-231.
65. Boyce SW, Bartels C, Bolli R, Chaitman B, Chen JC, Chi E, et al. Impact of sodium-hydrogen exchange inhibition by cariporide on death or myocardial

- infarction in high-risk CABG surgery cohort of the GUARDIAN study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 126: 420-427.
66. Pernow J, Bohm F, Beltran E, Gonon AT. L-arginine protects from ischemia reperfusion–induced endothelial dysfunction in humans in vivo. *J Appl Physiol* 2003; 95: 2218-2222.
 67. Lerman A, Burnett Jr JC, Higano ST, McKinley LJ, Holmes Jr DR. Long-term L-arginine supplementation improves small-vessel coronary endothelial function in humans. *Circulation* 1998; 97: 2123-2128.
 68. Jones SP, Greer JJ, Kakkar AK, Ware PD, Turnage RH, Hicks M, Van Haperen R, De Crom R, Kawashima S, Yokoyama M et al. Endothelial nitric oxide synthase overexpression attenuates myocardial reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: 276-282.
 69. Inse J, Garcia-Dorado D, Agullo L, Paniagua A, Soler-Soler J. Urodilatin limits acute reperfusion injury in the isolated rat heart. *Cardiovasc Res* 2000; 45: 351-359.
 70. Moens AL, Claeys MJ, Timmermans JP, Vrints CJ. Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. *Int J Cardiol* 2005; 100: 179-190.
 71. Kobara M, Tatsumi T, Kambayashi D, Mano A, Yamanaka S, Shiraishi J, Keira N, Matoba S, Asayama J, Fushiki S et al. Effects of ACE inhibition on myocardial apoptosis in an ischemia – reperfusion rat heart model. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 41: 880-889.
 72. Fitch JC, Rollins S, Matis L, Alford B, Aranki S, Collard CD, et al. Pharmacology and biological efficacy of a recombinant, humanized, single-chain antibody C5 complement inhibitor in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1999; 100: 2499-2506.

73. Pearl JM, Nelson DP, Wagner CJ, Lombardi JP, Duffy JY. Endothelin receptor blockade reduces ventricular dysfunction and injury after reoxygenation. *Ann Thorac Surg* 2001; 72: 565-570.
74. Moens AL, Claeys MJ, Timmermans JP, Vrints CJ. Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. *Int J Cardiol* 2005 Apr 20; 100: 179-190.
75. Kohno H, Koyanagi T, Kasegawa H, Miyazaki M. Three-day magnesium administration prevents atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 2005; 79: 117-126.
76. Pruefer D, Buerke U, Khalil M, Dahm M, Darius H, Oelert H, Buerke M. Cardioprotective effects of the serine protease inhibitor aprotinin after regional ischemia and reperfusion on the beating heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 124: 942-949.
77. Tyagi P, Tayal G. Ischemic preconditioning of myocardium. *Acta Pharmacol Sin* 2002; 23: 865-870.
78. Doval HC, Nul DR, Grancelli HO, et al: Randomised trial of low-dose amiodarone in severe congestive heart failure. Grupo de Estudio de la Sobrevida en la Insuficienci Cardiaca en Argentina (GESICA). *Lancet* 1994; 344: 493.
79. Daoud EG, Strickberger SA, Man KC, Goyal R, Deeb GM, Bolling SF et al. Preoperative amiodarone as prophylaxis against atrial fibrillation after heart surgery. *N Engl J Med* 1997; 337: 385.
80. Dorian P, Mangat I: Role of amiodarone in the era of the implantable cardioverter defibrillator. *J Cardiovasc electrophysiol* 2003; 14: 78.
81. Ott MC, Koor A, Leventhal JP, et al: Pulmonary toxicity in patients receiving low-dose amiodarone. *Chest* 2003; 123: 646.

- 82.** Van Opstal JM, Schoenmakers M, Verduyn SC, et al: Chronic amiodarone evokes no torsades de pointes arrhythmias despite QT lengthening in an animal model of acquired long-QT syndrome. *Circulation* 2001; 104: 2722.
- 83.** Cardenas GA, Cabral JM, Leslie CA: Amiodarone induced thyrotoxicosis: Diagnostic and therapeutic strategies. *Cleve Clin J Med* 2003; 70: 624-628.
- 84.** Sreih AG, Schoenfeld MH, Marieb MA: Optic neuropathy following amiodarone therapy. *Pacing Clin Electrophysiol* 1999; 22: 1108.
- 85.** White CM, Caron MF, Kalus JS, Rose H, Song J, Reddy P, et al. Intravenous plus oral amiodarone, atrial septal pacing, or both strategies to prevent post-cardiothoracic surgery atrial fibrillation. *Circulation* 2003; 108: 200-206.
- 86.** White CM, Giri S, Tsikouris JP, Dunn A, Felton K, Reddy P, et al. A comparison of two individual amiodarone regimens to placebo in open heart surgery patients. *Ann Thorac Surg* 2002; 74: 69-74.
- 87.** Kaminski KA, Bonda TA, Korecki J, Musial VJ. Oxidative stres and neutrophil activation-the two keystones of ischemia/reperfusion injury. *Int J Cardiol* 2002; 86: 41-59.
- 88.** Morin D, Hauet T, Spedding M, Tillement JP. Mitokondria as target for antisichemic drugs. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 49: 151-174.
- 89.** Tomomi I, Hiroyuki T, Shintaro K, Hideo U, Akira T. Amiodarone protects cardiac myocytes against oxidative injury by its free radical scavenging action. *Circulation* 1999; 100; 690-692.
- 90.** Riberio SMR, Campello AP, Nascimento AJ, lucia M, Klupper W. Effect of amiodarone (AMD) on the antioxidant enzymes, lipid peroxidation and mitochondrial metabolism. *Cell Biochemistry And Function* 1997; 15: 145-152.
- 91.** Wilson BD, Clarkson CE, Lipomann ML, Amiodarone causes decreased cell-mediated immune responses and inhibits the phospholipase C signalling pathway. *Lung* 1993; 171: 137-148

92. Hearse DJ, Humphrey SM, Chain EB. Abrupt reoxygenation of anoxic potassium-arrested perfused rat heart: A study of myocardial enzyme release. *J Mol Cell Cardiol* 1973; 5: 395-407.
93. Bulkley BH, Hutchins GM. Myocardial consequences of coronary artery bypass graft surgery: the paradox of necrosis in areas of revascularization. *Circulation* 1977; 56: 906-913.
94. Sochman J. N-acetylcysteine in acute cardiology: 10 years later: what do we know and what would we like to know? *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 1422-1428.
95. Bolli R. Mechanism of myocardial “stunning.” *Circulation* 1990; 82: 723-738.
96. Josephson RA, Silverman HS, Lakatta EG, Stern MD, Zweier JL. Study of the mechanisms of hydrogen peroxide and hydroxyl free radical-induced cellular injury and calcium overload in cardiac myocytes. *J Biol Chem*. 1991; 266: 2354 - 2361.
97. Akins CW, Boucher CA, Pohost GM. Preservation of interventricular septal function in patients having coronary artery bypass grafts without cardiopulmonary bypass. *Am Heart J* 1984; 107: 304-309.
98. Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim* 1998; 11: 342-346.
99. Seven A, Candan G). Antioksidant defense systems. *Cerrahpaşa J Med* 1996; 27: 41-50.
100. İlhan N. Deneysel olarak karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan kobaylarda oksidan ve antioksidan sistemin incelenmesi. Doktora tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı 1998.
101. Tripathi Y, Hegde BM. Effect of N-acetylcysteine on myocardial infarct size following ischemia and reperfusion in dogs. *Indian J Physiol Pharmacol* 1998; 42: 50-56.

102. Yoshida T, Watanabe M, Engelman DT, Engelman RM, Schley JA, Maulik N, Ho YS, Oberley TD, Das DK. Transgenic mice overexpressing glutathione peroxidase are resistant to myocardial ischemia reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol.* 1996; 28: 1759-1767.
103. Sumeray MS, Rees DD, Yellon DM. Infarct size and nitric oxide synthase in murine myocardium. *J Mol Cell Cardiol.* 2000; 32: 35-42.
104. Tsao PS, Aoki N, Lefer DJ, Johnson G 3rd, Lefer AM. Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during myocardial ischemia and reperfusion in the cat. *Circulation* 1990; 82: 1402-1412.
105. Becker BF, Kupatt C, Massoudy P, Zahler S. Reactive oxygen species and nitric oxide in myocardial ischemia and reperfusion. *Z Cardiol* 2000; 89: 88.
106. Jordan JE, Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Research* 1999; 43: 860-878
107. George V Moukarbel, Chakib M Ayoub, Antoine B Abchee. Pharmacological therapy for myocardial reperfusion injury. *Current Opinion in Pharmacology* 2004; 4: 147-153
108. Singh SN, Fletcher RD, Fisher SG, Singh BN, Lewis HD, Deedwania PC, Massie BM, Colling C, Lazzeri D. Amiodarone in patients with congestive heart failure and asymptomatic ventricular arrhythmia. Survival Trial of Antiarrhythmic Therapy in Congestive Heart Failure. *N Engl J Med* 1995; 333: 77-82.
109. The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST) Investigators. Effect of encainide and flecainide on mortality in infarction. *N Engl J Med* 1989; 321: 406-412.
110. Stevenson WG. Mechanisms and management of arrhythmias in heart failure. *Curr Opin Cardiol.* 1995; 10: 274 -281.
111. Halici Z, Dengiz GO, Odabasoglu F, Suleyman H, Cadirci E, Halici M. Amiodarone has anti-inflammatory and anti-oxidative properties: An

experimental study in rats with carrageenan-induced paw edema. *European Journal of Pharmacology* 2007; 566: 215–221.

112. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991; 88: 1785-1792.
113. Rekka E, Mannhold RM, Bast A, Timmerman H. Molecular pharmacological aspect of antiarrhythmic activity. Class I and class III compounds and lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol* 1990; 39: 95-100.
114. Nagatsuka S, Nakazawa T. Effects of membrane stabilizing agents, cholesterol and cepharantin, on radiation induced lipid peroxidation and permeability in liposomes. *Biochim Biophys Acta* 1982; 691: 171-177.
115. Domenico Lapenna, Giuliano Ciofani, Cristiana Bruno, Sante D. Pierdomenico & Franco Cuccurullo. Antioxidant activity of amiodarone on human lipoprotein oxidation *British Journal of Pharmacology* 2001; 133: 739 - 745.
116. Khishida S, Nakajima T, Ma J et al. Amiodarone and N-desethylamiodarone enhance endothelial nitric oxide production in human endothelial cells. *Int Heart J* January 2006; 47; 93-85.

6. ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Kastamonu'nun Çatalzeytin ilçesinde doğdum. İlk ve ortaokulu Çatalzeytinde, liseyi İneboluda okudum. Üniversite öğrenimime 1997 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde başlayıp, 2003 yılında mezun oldum. Aynı yıl Fırat Üniversitesi Kalp Damar Cerrahisi AD'da araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım. Evli ve iki çocuk babasıyım.