

**T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**MİYOKARDİYAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
EPİDURAL SUFENTANİL İLE KARDİYAK KORUMADA
OPIOİD RESEPTÖRLERİNİN ROLÜ
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

Dr. Bilge KÖKTAŞ

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2017

**T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**MİYOKARDİYAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
EPİDURAL SUFENTANİL İLE KARDİYAK KORUMADA
OPIOİD RESEPTÖRLERİNİN ROLÜ
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

Dr. Bilge KÖKTAŞ

UZMANLIK TEZİ

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Gamze SARKILAR

**Bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından
141518009 nolu uzmanlık tez projesi olarak desteklenmiştir.**

KONYA, 2017

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, üzerimizde büyük emekleri olan sayın hocalarım; Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sema TUNCER UZUN ve değerli hocalarım Prof. Dr. Őeref OTELCİOğLU, Prof. Dr. Selmin ÖKESLİ, Prof. Dr. Cemile ÖZTİN ÖğÜN, Prof. Dr. Alper YOSUNKAYA, Prof. Dr. Ruhiye REİSLİ, Prof. Dr. Aybars TAVLAN, Prof. Dr. Atilla EROL, Doç. Dr. Ahmet TOPAL, Doç. Dr. Alper KILIÇASLAN, Yrd. Doç. Dr. Gamze SARKILAR, Yrd. Doç. Dr. Funda GÖK'e teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığım esnasında ekip ruhu ile özveri içinde beraber çalıştığımız asistan arkadaşlarım ve klinik çalışanlarına teşekkür ederim.

Tez yapım aşamasında desteğini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. İbrahim KILINÇ'a, Yrd. Doç. Dr. Gökhan CÜCE'ye, Uzm. Dr. Abdullah ÖZER'e, anestezi teknisyenleri Mehmet KOVALI ve Tunay GÜLMEZ'e, Deneysel Tıp Araştırma Merkezi personellerine ve klinik sekreterimiz Fatma SİYAHGÜL'e teşekkür ederim.

Hayatları boyunca hiçbir zaman desteklerini ve sevgilerini esirgemeyen anne, babam ve abilerime, hayat arkadaşım, değerli eşim Haydar'a ve biricik kızım Hatice Kübra'ya sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ocak 2017

Dr. Bilge Köktaş

ÖZET

Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarında Epidural Sufentanil ile Kardiyak Korumada Opioid Reseptörlerinin Rolü (Deneysel Çalışma) Bilge Köktaş, Uzmanlık Tezi, Konya, 2017

Amaç: Deneysel çalışmalar, opioidlerin iskemik hasara karşı miyokardiyal koruma sağladığını göstermektedir. Sufentanil çok yüksek lipid çözünürlüğü ve oldukça yüksek opioid reseptör aktivitesine sahip mü opioid agonistidir. Sufentanil, fentanilden daha potent ve daha az hemodinamik instabiliteye neden olan bir anesteziiktir. Bu üstün farmakolojik özellikleri nedeniyle, kardiyovasküler cerrahi anestezi uygulamalarında yaygın olarak kullanılır. Çalışmamızda epidural uygulanan sufentanilinopioid reseptörlerine etkisini belirlemek için epidural ve intravenöz nalokson uygulandı. Her iki ajanın iskemi reperfüzyon hasarında etkisi oksidatif stres, inflamasyon, apoptotik ve enzimatik yolaklar üzerinden araştırıldı.

Gereç ve yöntem: Çalışma 64 adet New Zeland cinsi beyaz tavşan ile yapıldı. Sham grubunda bir denek iskemiye tolere edemediği için çalışmadan çıkartıldı ve 63 tavşan ile çalışma tamamlandı. Denekler; sham (n=7), I/R (n=8), epidural 5 mcg sufentanil+I/R (eS+I/R) (n=8), epidural 5 mcg sufentanil (eS) (n=8), epidural 5mcg sufentanil+iv 0,04 mg nalokson+I/R (eS+ iN+I/R) (n=8), epidural 5mcg sufentanil+epidural 0,04 mg nalokson+I/R (eS+ eN+I/R) (n=8), iv 0,04 mg nalokson+I/R (iN+I/R) (n=8), iv 0,04 mg nalokson (iN) (n=8) olmak üzere rastgele 8 gruba ayrıldı. Sol torakotomi yapıldıktan sonra sol anterior inen artere 30 dakika iskemi sonrasında 120 dakika reperfüzyon tatbik edildi. İşlem süresince hemodinamik veriler kayıt edildi. Kalp dokusunda transferase-mediated DNA nick-end labeling staining (tunel), cysteine aspartate spesific proteases (kaspaz) 3, b-cell lymphoma(Bcl-2) ve bcl-2-associated X protein(Bax) immunhistokimyasal olarak çalışıldı. Plazmada ve kalp dokusunda; total antioxidant seviye (TAS), total oxidant seviye (TOS), oksidatif stres indeksi (OSI), malondialdehit (MDA), interlökin 1 beta (IL1 β), tümör nekrozing faktör alfa (TNF α) seviyeleri ölçüldü. Kalp dokusunda rabbit kaspaz 3, Bax, Bcl-2, Bax/Bcl2 miktarları enzyme-linked immunoSorbent Assay (ELISA) yöntemiyle tespit edildi. Serumda rabbit kütle kreatin kinaz-MB(CK-MB) ELISA yöntemi ile belirlendi.

Bulgular: Biyokimyasal parametrelerden doku TAS ($p=0,000$), serum TAS ($p=0,038$), doku OSI($p=0,000$), serum OSI($p=0,000$), doku MDA ($p= 0,000$) ve serum MDA ($p= 0,000$), serum TNF α ($p=0,000$), doku Bcl-2 ($p=0,031$), doku Bax/Bcl2 ($p=0,001$), serum CK-MB($p=0,046$) aktivitesi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunurken doku ve serum TOS, doku ve serum IL1 β , doku TNF α , doku kaspaz 3 ve Bax aktivitesi gruplar arasında benzer bulundu ($p>0,05$). İmmunohistokimyasal

değerlendirmelerden kaspaz3 (p=0,000), bax (p=0,000), bcl-2 (p=0,000) ve TUNEL (p=0,000)' de gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulundu.

Sonuç: Epidural sufentanil ve iv nalokson antiapoptotik ve antioksidan özelliğe sahiptir. Bu özelliklerini opioid reseptörleri haricindeki mekanizmalarla gösteriyor olabilir.

Anahtar Kelimeler: Miyokardial iskemi reperfüzyon hasarı, epidural sufentanil, nalokson, apoptozis, oksidatif stres, inflamasyon.

ABSTRACT

Cardioprotection With Epidural Sufentanil From Myocardial Ischemia Reperfusion Injury: Role Of Opioid Receptors, (Experimental Study) Bilge Köktaş, Dissertation, Konya, 2017

Aim: Experimental studies have shown that opioids protect myocardium from ischemic injury. Sufentanil is a potent mu-receptor agonist characterized by a very high lipid solubility and high affinity to opioid receptors. Sufentanil is an anesthetic which is more potent and causes less hemodynamic instability than fentanyl. It is widely used in cardiovascular surgery anesthesia due to this efficient pharmacological properties. In our study, epidural and intravenous naloxone was administered to determine the effect of epidurally applied sufentanil on opioid receptors. The effect of both agents on ischemia reperfusion injury was investigated through oxidative stress, inflammation, apoptotic and enzymatic pathways.

Material and Methods: We made this study The study was administered with 64 New Zealand type white rabbits. In the sham group, one rabbit was removed from the study because it had not tolerated ischemia, and study completed with 63 rabbits. Rabbits were randomly divided into eight groups The groups are control (n=7), I/R (n=8), epidural 5 mcg sufentanil+I/R (eS+I/R) (n=8), epidural 5 mcg sufentanil (eS) (n=8), epidural 5mcg sufentanil+iv 0,04 mg naloxone+I/R (eSiN+I/R) (n=8), epidural 5mcg sufentanil+epidural 0,04 mg naloxone+I/R (eSeN+I/R) (n=8), iv 0,04 mg naloxone+I/R (iN+I/R) (n=8), iv 0,04 mg naloxone(iN) (n=8). After left thoracotomy by using left anterior descending artery ischemia has been applied 30 minutes and it is followed by 120 minutes reperfusion. Hemodynamic data were recorded during the experiment. Tunel (transferase-mediated DNA nick-end labeling staining), cysteine aspartate spesific proteases(caspase) 3, b-cell lymphoma-2 (Bcl-2) and Bax were studied immunohistochemically at the heart tissue. In plasma and heart tissue; total antioxidant level (TAS), total oxidant level (TOS), oxidative stress index (OSI), malondialdehyde (MDA), IL1, TNF α levels were measured. In the rabbit heart tissue caspase 3, Bax, Bcl-2, Bax / Bcl-2 were detected by ELISA. Rabbit mass CK-MB was determined by enzyme-linked immuno Sorbent Assay (ELISA) method in serum.

Results: Biochemical parameters were tissue TAS (p = 0,000), serum TAS (p = 0,038), tissue OSI (p = 0,000), serum OSI (p = 0,000), tissue MDA (p = 0,000), serum MDA (p=0,000), serum TNF α (p = 0,000), tissue Bcl-2 (p = 0,031), tissue Bax / Bcl-2 (p = 0,001) and serum CK-MB (p=0,046) activity was found to be statistically significant among the groups tissue and serum TOS, tissue and serum IL1 β , tissue TNF α , tissue caspase 3 and Bax activity were similar between the groups (p> 0.05). Immunohistochemical evaluations

revealed statistically significant differences between the groups in caspase 3 ($p = 0,000$), Bax ($p = 0,000$), Bcl-2 ($p = 0,000$) and TUNEL ($p = 0,000$).

Conclusion: Epidural sufentanil and iv naloxone have antiapoptotic and antioxidant properties. These properties may be indicative of mechanisms which are different from opioid receptors.

Keywords: Myocardial ischemia reperfusion injury, epidural sufentanil, naloxone, apoptosis, oxidative stress, inflammation.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR ve SİMGELER	vi
TABLolar, ŞEKİLLERVE RESİMLER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1.Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon.....	2
2.2. Nöroaksiyel Bloklar.....	12
2.3. Opioidler.....	15
2.4. Sufentanil.....	17
2.5. Epidural Opioidler.....	19
2.6. Opioidleri İskemi Reperfüzyon Üzerine Yan Etkileri.....	20
2.7. Apoptozis.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA.....	39
6. SONUÇve ÖNERİLER.....	45
7. KAYNAKLAR.....	46

Kısaltmalar ve Simgeler

ATP	:Adenozin trifosfat
Bax	:Bcl-2-associated X protein
Bcl	:B-cell lymphoma
Ca⁺²	:Kalsiyum
CABGO	:Kardiyopulmoner bypass operasyonları
CK-MB	:Kreatin kinaz-MB
Cl⁻	:Klor
cm	:Santimetre
CO₂	:Karbondioksit
d	:Doku
dk	:Dakika
DNA	:Deoksiribonükleik asit
ELİSA	:Enzyme-linked immunoSorbent Assay
h	:Histoloji
H	:Hidrojen
I/R	:İskemi/reperfüzyon
IL	:İnterlökin
IL1β	:İnterlökin 1 beta
IO	:İskemik önkoşullama
iv	:İntravenöz
K⁺	:Potasyum
KAH	:Kalp atım hızı
Kaspaz	:Cysteine aspartate spesifik proteases
K_{ATP}	:ATP'e duyarlı K ⁺ kanalları
kg	:Kilogram
LAD	:Sol anterior desendan arter
M2	:Muskarinik
MDA	:Malondialdehit
mg	:Miligram
MI	:Miyokard infarktüsü
mL	:Mililitre
mPTP	:Mitokondriyal geçiş poru
Na⁺	:Sodyum
NO	:Nitrik Oksit
O₂	:Oksijen

OAB	:Ortalama arter basıncı
OR	:Opioid reseptör
°C	:Santigrat derece
OH	:Hidroksil
OSI	:Oksidatif stres indeksi
PBS	:Fosfat tampon solüsyonu
ROS	:Reactive oxygen species
st	:Saat
s	:Serum
SOR	:Serbest oksijen radikalleri
TAS	:Total antioksidan seviye
TNF	:Tümör nekrotizan faktör
TOS	:Total oksidan seviye
TUNEL	:Transferase and biotin-16-dUTP
XOD	:Ksantin oksidaz
α	:Alfa
β	:Beta
δ	:Delta
ε	:Epsilon
κ	:Kappa
μ	:Mü
σ	:Sigma
μg	:Mikrogram

TABLolar DİZİNİ

Tablo 4.1.Grupların ağırlıkları.

Tablo 4.2.Rektal ısı değerlerinin karşılaştırılması.

Tablo 4.3.KAH değerlerinin karşılaştırılması.

Tablo 4.4. OAB değerlerinin karşılaştırılması.

Tablo 4.5.Doku ve serumda TAS, TOS, OSI, MDA, IL1 β ve TNF α değerlerinin, dokuda caspase3, Bax, Bcl-2 ve Bax/Bcl-2 değerlerinin ve serumda CK-MB verilerinin karşılaştırılması.

Tablo4.6. Caspase 3, Bax, Bcl-2 ve TUNEL verilerinin karşılaştırılması.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Sufentanilin kimyasal yapısı

RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1.Cerrahi hazırlık

Resim 3.2.LAD oklüzyonu

Resim 3.3. İskemi sırasındaelektrokardiyografi trasesi

Resim 4.1. TUNEL

Resim 4.2.Bax

Resim 4.3.Caspase3

Resim 4.4.Bcl-2

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü 2014' de "Dünyada İlk 10 Ölüm Nedeni Raporu"na göre ölümün en sık nedenininiskemik kalp hastalığının oluşturduğubelirlendi(World Health Organization, 2014). Bu da hekimleri iskemik kalp hastalığı tedavisinde yeni yöntemler keşfetmeye yönlendirmiştir.

Kalp cerrahilerinde perioperatif meydana gelen miyokardiyal iskemi, postoperatif morbidite ve mortalitenin önemli bir sebebidir. Dolayısıyla miyokardın korunması için, kalp cerrahisi anestezi uygulamaları ve cerrahi teknikler sürekli gelişmektedir. Kardiyovasküler stabilite, erken ekstübasyon, postoperatif ağrı kontrolüne yönelik anestezi uygulamalarıyla morbidite ve mortalite sıklığını düşürmek, hastanede kalış süresini ve maliyetini azaltmak amaçlanmıştır.

İskemi reperfüzyon (I/R) hasarı; miyokard infarktüsü, kardiak operasyonlar, transplantasyon, reimplantasyon gibi durumlarda ortaya çıkabilir. Deney hayvan modellerinde, reperfüzyon hasarının önlenmesinde bugüne kadar birçok mekanik ve farmakolojik yöntem test edilmiştir. I/R hasarını deney hayvan modellerinde önleyen pekçok tedaviler bulunmuş olsa da bunların çoğu insanlara uygulanamadı. Buna bağlı olarak klinik pratikte uygulama kolaylığı açısından farmakolojik yöntemler ön plana çıkmıştır. Perioperatif uygulanan kardiyoprotektif stratejilerin miyokard hasarında ve hücre ölümünde azalma sağlaması anestezi ajanlarının rollerinin araştırılmasını hızlandırmıştır. Opioidlerden morfinin intravenöz, intratekal ve epidural uygulanmasıyla kardiyoprotektif etkileri pek çok çalışmada ortaya çıkmıştır. Kalp ve toraks cerrahilerinde genel anesteziye alternatif ya da genel anesteziyi destekleyen yüksek torasik epidural veya spinal olmak üzere nöroaksiyel bloklar, uygulanan yeni stratejilerdir.

Bu sebeple, diğer opioidlere göre daha lipofilik ve potent olan sentetik opioidlerden sufentanilin epidural uygulamasının miyokardial I/R hasarında koruyucu olup olmadığı oksidatif stres, inflamatuvar ve apoptotik yollardan araştırmak için deneysel çalışma planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon(İ/R):

İ/R Hasarı

İskemi; arteriyel veya venöz kan akımı azalmasına bağlı doku ve organın yetersiz kanlanması sonucu bu doku veya organların oksijen (O₂) den yoksun kalmasıdır. Hücrede iske mi olduğunda, enerji depoları boşaldığı ve toksik metabolitler biriktiği için hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokunun -hücrenin rejenerasyonu ve toksik metabolitlerin temizlenmesi için- yeniden kanlanması gerekir. Ancak, iskemik dokunun yeniden kanlanması, dokuda iske mi ile oluşan hasara göre daha ciddi zararlara yol açar (Zimmerman BJ,1992). Reperfüzyon hasarında, hücre içine moleküler O₂ girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikalleri (SOR) başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarından en çabuk etkilenen hücresel yapılar; membran lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit (DNA) molekülleridir (Wilhelm J,1990).

İskeminin patofizyolojisi

İskemik kalp hastalığı, yüksek mortalite ve morbidite ile seyrederek gelişmiş ülkelerdeki ölümlerin yarısının nedeni kalp damar sistemi ile ilgili sorunlardır. İskemik kalp hastalığının en sık nedenleri;arteriyel trombüs,spazm ve koroner embolilerdir. Miyokardiyal iske mi; kalp dokusuna gelen O₂ ve diğer besleyici maddelerin, yavaş yavaş yada aniden, azalması ile oluşan metabolitlerin temizlenmesinin aksaması sonucu miyokardiyal fonksiyon kaybı ve hücre ölümüdür. Erken reperfüzyon, miyokarddaki hasarın en aza inmesini ve kalbin pompa fonksiyonunun korunmasını sağlar.Uzamış iske mi sonrasında reperfüzyon olduğunda ise bazı morfolojik değişiklikler, enzim yıkımının artması, ventriküler fibrilasyon gibi ciddi ventriküler aritmiler ve hatta canlı bazı hücrelerin ölümü meydana gelebilir. Kardiyopulmoner bypass operasyonları (CABGO) sırasında meydana gelen reperfüzyon aritmileri de reperfüzyon sonrası oluşan aritmilerin çok tehlikeli olabileceğini göstermiştir (Şaha,2006).

Koroner damarların oklüzyonundan 15-20 saniye sonra oksidatif fosforilasyon, elektron transportu ve mitokondriyal Adenozin trifosfat (ATP) yapımı durur. Anaerobik glikoliz esas enerji kaynağı haline geçer. Glikoliz, glikolitik ara maddelerin birikmesine ve nikotinamid adenin dinükleotidin azalmasına yol açar. Glikolitik aktivitenin devam etmesi için piruvat, laktata indirgenir ve miyokard hücrelerinde laktik asit birikmesine neden olur. Miyokard hücrelerinde laktik asit birikimi, glikolitik zincirin anahtar enzimlerinin inhibe olmasına, doku pH'ının azalmasına ve hücre içi asidozise sebep olur. Hücre membranında ATP'ye bağımlı iyonik pompa fonksiyonunun bozulması potasyum (K⁺) kaybı ve hücre içinde aşırı miktarda sodyum (Na⁺), klor (Cl⁻), kalsiyum (Ca⁺²) ve su birikmesine neden

olmaktadır (Katz A M,1979).Artan hücre içi Ca^{+2} proinflamatuvarların birikmesine, membranların işlev ve bütünlüğünün bozulmasına ve hücre iskeletinin organizasyonunun bozulmasına neden olur. Öte yandan dokuların enerji depoları tükenip, toksik yeni bileşiklerin oluşum hızında artış meydana gelirken prostasiklin, nitrik oksit (NO) gibi biyolojik aktif ajanların üretimi azalır. İskemik hücrelerde bazı genlerin oluşumu azalırken (adhezyon molekülleri, sitokinler) bazı genlerin (endotelial NO sentaz (eNOS), trombomodulin) ise artar (Grace PA,1999). I/R döneminde aktive olan trombositler hasarlı bölgelerde agregasyon oluşturur. Trombositler ve trombosit ürünleri (tromboksan A^2 ve serotonin) mikrosirkülatuar spazm, mikrovasküler konjesyon, trombozis ve koroner akımda yavaşlamaya neden olarak vasküler disfonksiyonla İ/R hasarını ağırlaştırabilir (Xiao CY,2001).

Anaerobik metabolizmaya bağlı iskemi, adenin nükleotidlerinin katabolizmasına yol açarak ATP'nin azalması ve hücre içinde hipoksantin birikimine neden olur. Ksantin oksidaz(XOD) enzimi hipoksantini önce ksantine sonra ürik aside okside eder. Ksantin dehidrogenaz enzimi, dokuda stres koşulları altında proteolizise neden olan XOD enzimine dönüşür. XOD'ın faaliyeti sonucunda yüksek miktarda süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri (OH^{\cdot}) gibi serbest oksijen türleri meydana gelir(Barlas S,1994).Serbest O_2 türleri en dış yörüngesinde çiftlenmemiş elektron ihtiva eden, oldukça reaktif,kararlı olmayan moleküllerdir ve sitotoksik özellik taşır. Bu serbest radikaller sonuçta miyokard hücrelerinin hasarına ve ölümüne yol açar. Reperfüzyon sonrası miyokarda reaktif O_2 türlerinin üretimi artar ve bunların en fazla salınımı reoksijenizasyonun ilk 15 dakikasında (dk) olur. Doku İskemik hasardansa miyokard reperfüzyondan daha çok zarar görür. İ/R hasarı sonucunda reperfüzyon aritmeleri, miyokardiyal stunning, mikrovasküler hasar, miyokardiyal hibernasyon ve no-reflow fenomeni gibi olaylar meydana gelir (James A,2008).

Miyokardiyal stunning (sersemleme); reperfüzyon sonrası miyokardiyal kontraktilitenin preiskemik değerlere aşamalı olarak dönmesidir (Kloner RA,2001). Bunun örneklerine insanlarda trombolitik tedavi, koroner anjiyoplasti ve koroner arter bypass cerrahisinde rastlanılabılır.Reperfüzyon esnasında reaktif O_2 türleri ve geçici Ca^{+2} yükselmesi, kontraktıl filamentlerin Ca^{+2} a cevap verme kapasitesini azaltarak kontraktıl disfonksiyonda uzamaya neden olur.

Miyokardiyal hibernasyon koroner perfüzyonun azalmasına bağlı miyokardiyumun metabolik ihtiyaçlarını ve kendi kontraktıl fonksiyonunu azalttığı bir adaptasyondur. Miyokardiyal stunningin tekrarlayıcı epizodlarından sonra ortaya çıkmaktadır. Stunning ve hibernasyon,her ikisinde de sol ventrikül disfonksiyonu geridönüşümlüdür. Stunningde

miyokardiyum daha çok bozulmuş fonksiyonun akut fazındadır. Stunningde miyokardiyal kan akımı normal veya normale yakinken, miyokardiyal hibernasyonda kan akımı azalmıştır (Bolli R,1992).Miyokardiyal hibernasyonda iyileşme süresi değişkendir. Akut, subakut (haftalar) veya kronik (aylar,yıllar)olabilir. Kronik hibernasyonda koroner kan akımı normale dönse bile miyokard fonksiyonunun düzelmesi gecikebilir.

No-reflow fenomeni;iskemik bölgenin reperfüze olmasına rağmen perfüze olmamasına no-reflow fenomeni denir.No-reflow fenomeni safen ven grefti, aterektomi, perkütan transluminal koroner anjiyoplasti ve stent anjiyoplastisi gibi farklı durumlarda görülebilir. No-reflow fenomeni anjiyografi, sintigrafi, kontrast ekokardiyografi ve doppler flow wire gibi yöntemlerle belirlenebilir (Hamada S,1999, Ragosta M,1994).Epikardiyal koroner akım normal olmasına rağmen, miyokard reperfüzyonunun azalmasında distal embolizasyon, vazokonstriksiyon, nötrofil aktivasyonu, intravasküler trombus veya trombosit agregasyonu, doku ödemi, myokardiyal kontraktür gibi birçok mekanizması vardır (Piana RN,1994).Birçok çalışmada no-reflow alanlarında lökosit birikiminden bahsetmektedir. Lökositler; reaktif O₂ metabolitleri oluşmasına, proteolitik enzimler salgılanmasına, mikrovasküler oklüzyona,vasküler permeabilite artışına ve sitokin salınmasına neden olmaktadır. Ayrıca oluşan lökotrenerlerle,endotel ve trombosit fonksiyonlarını değiştirmektedir (Meisel SR,1998).

Metabolik çalışmalara göre, iç mitokondriyal membranın kanalı olan mitokondriyal permabilite geçiş poru (mPTP) reperfüzyon hasarında önemli bir belirteçtir (Heusch G,2010).Miyositler yüksek miktarda enerji kullandığı için mitokondriden zengindir. Mitokondri membranı normalde iyon ve proteinelere geçirgen değildir.mPTP mitokondri membranı ve sarkoplazma arasında nonselektif bir kanaldır. Miyokard iskemisi sırasında, mPTP kapalı kalır, sadece miyokardiyal reperfüzyonun ilk birkaç dakikasında açılır. Bu porun açılması, mitokondriyal Ca⁺² aşırı yüklenmesine, pH'ın hızlı normalizasyonuna, elektrokimyasal gradientin kaybına, serbest O₂ radikallerinin ve apoptoza neden olan yapıların saliverilmesine ve oksidatif strese yol açar (Kim JS,2006).Serbest radikallerin neden olduğu hasarda mPTP kanalının açılışını tetikler (Zorov DB,2009).Bu durum ise pozitif feedback mekanizması ile mitokondriden daha fazla serbest radikal saliverilmesine neden olur(ROS(reactive oxygen species) bağımlı ROS saliverilmesi) (Zorov DB,2000).Bu nedenle; mPTP, reperfüzyon sırasında kalbin korunmasında önemlidir.

Reaktif O₂ ara ürünleri, lipit, protein ve nükleik asitlerde direkt hasara yol açar. Bu hasar sitokin aracılı kaskadı başlatır ve TNF- α 'nın fazlaca üretilmesine neden olur. Aşırı TNF- α ekspresyonu ve kardiyomiyositlerde TNF reseptör tip 1 aktivasyonu, kontraktıl disfonksiyon, hipertrofi, fibrozis ve hücre ölümüne sebep olur (Kleinbongard P,2011).Ayrıca, intraselüler Ca⁺² artışı, Ca⁺²-pirofosfat kompleksi ve ürik asit oluşumuna neden olur ki bu da

inflamasyonun potent bir uyarandır. Ca^{+2} -fosfat kompleksleri ve ürik asit inflamazom denilen intraselüler protein komplekslerine bağlanır (Kawaguchi M,2011).

I/R hasarına endotelde aktif olarak katkı sağlar. Endotel, NO'nun başlıca kaynağıdır. Normal şartlarda NO vazodilatasyona neden olur ve dolayısıyla oksijen tüketimi, platelet agregasyonu, lökosit adhezyonu ve serbest radikal temizlenmesi gibi olaylar üzerindedir. I/R da koruyucu etkisi vardır. Paradoksal olarak, NO yüksek konsantrasyonda peroksi nitrit gibi reaktif ürünlerin oluşumuna katkı sağlayarak ROS bağımlı toksisiteye neden olabilir(Beckman JS,1990).NO üzerinden koroner endotel,vazoaktif maddelerin kaynağı olarak çalışır ve sitokin, kemokin, adhezyon molekülleri vasıtasıyla da immün sistemi aktive eder. Endotel hasarı, vasküler permeabiliteyi artırır ve bu hasarlı endotelden salgılanan hücresel adhezyon molekülleri (ICAM-1, UCAM-1, E-selectin) inflamatuvar hücrelerin dokuya invazyonuna neden olur.

Kaspaz-3, kaspaz-8, interlökin-6 (IL-6), kalpainler ve TNF- α gibi sinyal yollarının I/R ilişkili miyokard hasarından sorumlu oldukları bildirilmiştir (Spear JF,2007;Inuo K,2002).

Oksidatif stres ve serbest radikaller

Hücresel düzeyde fazlaca üretilen ROS lerin neden olduğu toksik etkiler vücutta antioksidan savunma sistemi ile yok edilmeye çalışılır. Antioksidan savunma yetersiz kaldığında oksidatif stres, pekçok önemli kalp hastalığının oluşmasına neden olmaktadır. Molekül, hücre ve doku düzeyindeki oksidatif hasarın en aza inebilmesi için oksidan-antioksidan sistem arasında bir denge sağlanmalıdır. Miyokardın antioksidan savunması birkaç aşama gösterir. Birinci savunma hücre içi antioksidanlardır ki bunlar; süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz vb. İkinci savunma lipolitik ve proteolitik enzimler(proteaz, fosfolipaz, vb.) dir. Üçüncül savunma ise Bcl-2 geni ve nükleer faktör kapp B, aktivatör protein gibi proteinler sayesinde hücre içi antioksidanların üretimini artırılmasıdır(Aral H,2002).

Serbest radikal, dış yörüngelerinde eşlenmemiş elektron içeren reaktif atom veya moleküllerdir(Acworth IN,1997).Serbest radikaller fizyolojik şartlarda ve dış etkenlere karşı organizmayı savunmak için belli miktarda oluşur. Bu endojen kaynaklar arasında O_2 , NO, uyarılmış nötrofil, mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, peroksizom ve plazma membranını sayabiliriz. Solunan O_2 'nin % 95'inden fazlası mitokondrilerde ATP şeklinde enerji oluşumunda kullanılırken, yaklaşık %5'i deSOR'a dönüşmektedir(Reiter RJ, 1995).

O_2 molekülüne bir elektron ilavesi ile süperoksit radikali oluşur ve bu süperoksit radikali oksidan hasar oluşumu ile artan süperoksit dismutaz enzimi aracılığı ile hidrojen peroksite indirgenir. Hidrojen peroksit eşlenmemiş elektron içermediği için radikal değildir (Davies SJ,1995).

Hidrojen peroksit, katalaz veya glutatyon peroksidaz tarafından, geçiş metallere varlığında fenton reaksiyonu ile oldukça reaktif ve toksik olan OH⁻radikaline dönüşür. Hücre içi ortamda herhangi bir OH⁻ radikal süpürücüsünün (SOR'u tutup yok eder) etkili olabilmesi için mevcut hedef moleküllerin önemli bir bölümünü kapsayacak kadar yüksek konsantrasyonda bulunması gerekir. Bu nedenle OH⁻ radikalinin oluşumunun önlenmesi, bu radikalın süpürülmesinden daha önemlidir (Reiter RJ,2001).

Serbest radikallere bağlı hücresel hasar

Reperfüzyon döneminde oluşan serbest radikallere en hassas yapılar membran lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve DNA molekülleridir(Wilhelm J,1990).

Reperfüzyon hasarının en önemli nedeni, artan serbest radikallerin plazma ve organel membranlarında neden olduğu lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu, ortamda doymamış yağ asitleri, O₂ ve metal katalizörler olduğu sürece yeni serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır. Membranlardaki yapısal hasarın derecesine göre, plazma membranında akışkanlığın azalması, membran geçirgenliğinin değişmesi, membran potansiyelinin azalması, membrana bağlı enzimlerin aktivitesinde azalma olur. Lizozomal ve mitokondrial membranların etkilenmesi sonucunda proteoliz hızlanır ve doku hasarını şiddetlenir (White BC, 1993;İşlekel H,2000).

Serbest radikaller özellikle duyarlı amino asitler ile etkileşerek proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarını değiştirir. Enzim veya reseptör fonksiyonlarına sahip olan proteinlerin oksidasyonu önemli hücresel fonksiyonların bozulmasına neden olmaktadır (Rice-Evans CA, 1994).

Reaktif O₂ radikalleri, DNA'nın temel yapı taşı olan nükleotidin yapısındaki purin ve pirimidin bazlarını etkileyerek (özellikle guanin bazının radikaller aracılığı ile hidrosilasyonu) mutasyonların oluşmasına neden olmaktadır(Kilgore KS,1993). Miyokard infarktüsü (MI) sırasında serbest radikallerin sarkoplazmik retikulumdaki Ca⁺² transportunu azalttığı gösterilmiştir (Hess ML,1983).

Miyokardiyal iskekiye karşı korunma mekanizmaları

Miyokardiyal önkoşullama

İskemik önkoşullama (İÖ), tek veya yineleyen kısa süreli iskemik periyotların, izleyen dönemlerdeki daha uzun süreli iskemik periyotlarda gelişebilecek hücre, doku veya organ hasarına karşı oluşturduğu koruyucu bir mekanizmadır.

İlk kez Murry ve ark. 1986'da köpekte miyokardiyal önkoşullamasını ve infarktüse karşı korumayı tanımlamıştır. Murry,köpek koroner arterinde 40 dk. iskekiye oluşturduktan sonraoluşan infarkt genişliğinin, riskli alanın % 29.4'ü kadar olduğunu fakat arka arkaya 4 kez 5'er dakikalık koroner oklüzyon ve reperfüzyon periyodu uygulandığında oluşturulan

infarkt genişliğinin ise riskli alanın yalnızca % 7.3'ü kadar olduğunu bulmuştur. Bu bulgu sayesinde ilk kez, canlı dokudaki akut stres durumunda hızlıca adaptasyon geliştiği saptanmıştır. Murry ve arkadaşları, önkoşullanmış dokuda kreatinin fosfat konsantrasyonunu yüksek, hücre içi glikozun fazla ve glikojenin az, K⁺ içeriğinin yüksek, adenin nükleotid havuzunun daha az ve ödematöz olduğunu belirtmiştir. Köpek miyokardından sonra çeşitli canlıların insanda dahil farklı dokularını çalışma materyali olarak kullanmıştır (Murry CE,1986).

İÖ, endojenkaynaklı koruyucu bir durumdur. 1964 de travma ve endotoksik uyarıya karşı endojen tolerans gelişimi için önkoşullama terimini kullanan ilk kişi ise Janoff'dur(Janoff A,1964).

Miyokardiyal önkoşullama, kalbin daha uzun süreli bir iskemisine karşı miyokardi koruyan ve halen sinyal iletilerinin araştırıldığı bir mekanizmadır. Şu ana kadarki gözlenen en kuvvetli infarkt oluşumu önleyen korumada miyokardiyal İÖ ile yapılandır. Önkoşullama ileapoptozis, nekroz alanı, endotel disfonksiyonu azalır. İOaritmleri ve postiskemik disfonksiyonu azaltır, iskeminin erken dönemlerinde enerji metabolizmasını yavaşlatır ve hipoksik hasara karşı direnci artırır(Richard V,1984).İÖ'nün miyokardiyal aritmleri ve stunningi azaltmadaki etkinliği, nekroz alanına olan etkisi kadar belirgin değildir. İskemi reperfüzyon boyunca SOR'un salınması, adenosin bradikinin ve opioid reseptörlerinin aynı anda aktivasyonu IO tetiklemeye katkıda bulunur(Cohen MV,2001).

Miyokardiyal İÖ'e dahil olan moleküller tetikleyiciler, mediyatörler ve uç efektörler olarak sınıflandırılır. Bunlar;

-Reseptör bağımlı tetikleyiciler; adenosin, bradikinin, opioidler, norepinefrin, siklooksijenaz ve lipoksijenaz ürünleri, anjiotensin, endotelin,

-Reseptör bağımsız tetikleyiciler; serbest radikaller, NO, Ca⁺²

-Mediyatörler; G proteinleri, fosfolipazlar, ısı şok proteinleri, protein kinaz C, tirozin kinaz, mitojenle aktive edilen protein kinazlar, endotoksin, janus kinaz, rho-kinaz yolağı, sinyal transdüktörü ve transkripsiyon aktivatörü yolağı

-Uç efektörler; ATP duyarlı K⁺ kanalları (K_{ATP}), mitokondriyal permeabilite geçiş poru (mPTP)

Uzak tip önkoşullama

Bir doku veya organda uzamış İ/Rhasarı olurken vücudun başka bir doku veya organında kısa süreli iskemi yaparak korunma sağlanması uzak İÖ olarak adlandırılır (Tapuria N,2008).

Uzak İÖ'nün kalp, karaciğer, bağırsak, beyin, akciğer ve pankreas dokularında da koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir(Deutsch E,1990).

Cheung ve ark kardiyak cerrahi geçiren çocukların alt ekstremitesine uyguladıkları beşer dk'lık dört iskemi döngüsünün miyokard fonksiyonuna etkilerine bakmışlar ve uzak İÖ grubunda miyokard fonksiyonunun daha iyi, miyokard hasarının ise daha az olduğu sonucuna ulaşmışlar(Cheung MM,2006).

Kharbanda ve ark. yaptığı deneysel çalışmada ise alt ekstremiteye beşer dakikalık dört İ/R döngüsü yaptıkları grupta miyokard infarkt alanının anlamlı olarak azaldığını tespit etmiştir. Uzak İÖ'nün mekanizmasında adenosin, norepinefrin,bradikinin ve K_{ATP} 'nin etkili olduğu düşünülmektedir(Kharbanda RK,2002).

Rahman ve ark. 2010'da CABGO geçiren sınırlı sayıdaki hastada yaptığı çalışmaya göre uzak İÖ'nün hemodinamik parametrelerde düzelme yapmadığını, böbrek ve akciğerlerde koruyucu etkisinin olmadığı sonucuna ulaşmıştır(Rahman IA,2010).

Deneysel çalışmalarda uzak İÖ'nün diğer organlara olumlu etkisinin olduğu büyük ölçüde kanıtlanırsa da, daha fazla klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Deneysel çalışmalarda uygulanan İÖ'nün I/R hasarını azaltmadaki etkisi İÖ'nün solid organ transplantasyonunda da uygulanabileceği düşüncelerini akla getirmiştir (Ambros JT,2007).Akut miyokard infarktüsü gibi başlangıç zamanının tahmin edilemediği zamanlarda İÖ yapılamazken, CABGO, karaciğertransplantasyonugibi uygulama öncesi I/R gerçekleşeceği cerrahilerde infarkt alanını azaltmak olası görünmektedir.

Erken ve geç tip önkoşullama

İ/R hasarına karşı önkoşullama iki fazlı koruma sağlamaktadır.

Erken faz; hasardan birkaç dakika sonra başlar, 2-3 saat devam eder.Güçlü fakat kısa süre etkilidir. İyon transportu gibi hazır savunma mekanizmalarının upregülasyonu ile olur.

Geç faz; 12-24 saat sonra başlar, 3-4 gün devam eder. Zayıf fakat daha uzun süre etkilidir. Yeni kardiyoprotektif proteinlerin sentezlenmesi ile olur(Bolli R,1997).

Erken ve geç önkoşullamada benzer hücresel sinyal ileti sistemleri kullanılmakla beraber her iki fazında kendine özgü koruma etkileri vardır. Mesela erken fazda miyokardiyal stunninge karşı korunma etkisi yokken geç fazda korunma etkisi vardır (Bolli R,1996).Erken fazın infarkt alanını azaltmaya olan etkisi geç fazın etkisinden fazladır (Yang XM, 1996).

Geç tip önkoşullama mekanizmasının ayrıntılarının ortaya çıkması yeni farmakolojik ajanların bulunmasını sağlamıştır(Hawaleshka A,1998).

MI gelişen insanlarda, İÖ'nün olumlu etkilerini diyabetes mellitusun engellediği tespit edilmiştir(İshihara M,2001).

Klinik uygulamalarda İÖ, deneysel çalışmaların aksine, mitokondriyal K_{ATP} kanallarının fonksiyonunu inhibe eden yaşlı veya hasta bir organda yapıldığı için sonuçlar farklılık göstermektedir. Meseladeneysel çalışmalarda İÖ'nün olumlu etkilerini hiperkolesterolemininazalttığıtespit edilmiştir(Gircz Z,2006;Görbe A,2011).

Kalbe uygulanan İO nun klinik sonuçları

CABGO geçirecek hasta grubu üzerinde yapılmak istenen çalışmalarda, kullanılan cerrahi teknik farklılıkları (normotermi veya hipotermi uygulanması, fibrilasyon veya kardiyopleji ile kardiyak arrest sağlanması gibi) ve önkoşullamanın etkilerinin hangi parametrelerle (hemodinamik düzelleme, kardiyak enzim seviyelerinin azalması, metabolik iyileşme, klinik durum düzelmeleri gibi) değerlendirileceği konusunda farklılıklar olması İÖ'nün etkilerinden kanıta dayalı şekilde bahsedilmesine engel teşkil etmektedir.Hatta kardiyak açıdan yüksek risk grubunda olan hasta miyokarda sahip kişilerde İÖ uygulamasının miyokardhasarını daha da arttıracığı iddia edilmektedir (Zaugg M,2003).

AkutMI geçiren hastalar daha önceden anjina pektoris geçirdiyse bu doğal olarak meydana gelen İÖ'nünkoruyucu etkisinin olduğu,infarkt alanının azaldığı, aritmi, kardiyak disfonksiyon ve mortalite insidansının azaldığıbelirtilmektedir(Rezkalla SH,2004).

Farmakolojik önkoşullama

Farmakolojik önkoşullama ile farmakolojik ajanları koroner oklüzyondan önce vererek miyokardiyal infarkt alanını azaltmak amaçlanmıştır. Adenozin A_1 agonistleri ve K_{ATP} kanal açıcıları preconditionmimetiklere örnek olarak verilebilirler. K_{ATP} kanal açıcıları önkoşullama süresini,protein kinaz C aktivasyonu için gerekli tetik değeri azaltarak uzatırlar.

Perioperatif dönemde kullandığımız β adrenerjik reseptör agonistleri (epinefrin, norepinefrin, izoproterenol), α_1 adrenerjik reseptör agonistleri (fenilefrin, norepinefrin),NO salan ajanlar (nitroprussid, nitroglicerol), anjiotensin converting enzim inhibitörleri (enalapril, kaptopril, lizinopril), Ca^{+2} , K_{ATP} kanal açıcıları (nonsteroid antiinflamatuvarlar, lokal anesteziklerden ropivakain ve bupivakain) kardiyak önkoşullamayı olumlu etkilerken; opioid antagonistleri (nalokson), adenozin reseptör agonistleri (teofilin, aminofilin), M_2 (muskarinik) reseptör antagonistleri (atropin), α_1 adrenerjik reseptör antagonistleri (fentolamin), kalsiyum kanal blokerleri (nifedipin), K_{ATP} kanal blokerleri (antidiyabetik ajanlar, lidokain), digoksin, aprotinin ve siklooksijenaz-2inhibitörlerinin önkoşullamaya olumsuz etkileri vardır (Zaugg M,2003).Fakatfarmakolojik önkoşullamayı indüklemek için önerilen bu ajanların çoğunun klinik kullanımlarını kısıtlayan,aritmi (adenozin, K_{ATP} kanal açıcıları), hipotansiyon (adenozin)veya olası kardiyolojik (protein kinaz C) yan etkileri vardır(De Hert SG,2009).

Anestezi ajanlarla önkoşullama

Anestezide kullanılan bazı ilaçların koroner kan akımının ve kalp yükünün azalmasından farklı olarak önkoşullamayı tetikleyip kardiyak koruyucu özelliklerinin oldukları tespit edilmiştir(Smul TM,2006;Andrews DT,2009).

Anestezi ilaçlarının kalbin korunmasındaki etki mekanizmaları;

-İskemik önkoşullama benzeri etki

-Hücre içinde aşırı Ca^{+2} birikiminin engellenmesi

-Antioksidan benzeri etki

-Nötrofil/trombosit endotel ilişkisine etki şeklindedir (Tüzüner F, 2010).

Perkütan translüminal koroner anjiyografi, CABGOveya kapak replasmanı geçiren hastalarda, volatil anestezi ajanlar ve opioidler ile önkoşullama yapılarak miyokarda pozitif etkiler sağlanabilir.Opioidler ile erken ve geç önkoşullama sağlanabilirken, volatil anestezi ajanlar ile sadece erken önkoşullama sağlanabilir. Öte yandan deneysel çalışmalarda, bazı anestezi ajanlarının (midazolam, propofol, barbitüratlar, ketamin) mitokondriyal K_{ATP} kanallarına tesirsiz olması veya baskılayıcı etkilerinden dolayı kardiyak olumlu izlenimlerinin ortadan kalktığı gösterilmiştir (Zaugg M,2003).

Anestezi ilaçlarının, I/R hasarında, hem elektrofizyolojik işlevlerin düzenlenmesinde hem de inflamatuvar yanıtın engellenmesinde faydası vardır (Lango R,2010).Elektrofizyolojik işlevin düzenlenmesini endotelial K_{ATP} kanallarını uyarıp koroner vazodilatasyon sağlayarak yaparken,NO salınımında artışla adezyon moleküllerinin ekspresyonunu, lökositlerin adezyonunu ve migrasyonunu engelleyerek inflamatuvar yanıtı azaltmış olur(Kohro S,2001).İnhalasyon anestezi ajanlarının, miyokard korunmasında etkili gen ve protein sentezini artırdığı ileri sürülmektedir(Preckel B,2005).Anestezi ilaçları, öte yandan, doza bağlı arter basıncını azaltır ve miyokard kontraktilesini azaltır.

Propofolün serbest radikalleri temizleyerek ve Ca^{+2} kanallarının blokajı ile I/R hasarını azalttığı savunulmaktadır(Kato R,2002).Lee ve ark., ratlarda yaptıkları deneysel araştırmada, bilateral karotis arterleri klemplediklerinde propofol verdikleri grupta infarkt alanının kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığını bulmuşlardır (Lee Y,2000).

Morfin, kardiyak koruyucu etkisini δ_1 opioid reseptör aktivitesi ile K_{ATP} kanallarını aktive ederek gösterir. Morfinin δ_1 reseptör aktivitesi, fentanil ve diğer sentetik opioidlere göre daha fazla olduğu için, morfin ile önkoşullama daha iyi sağlanır(Aykaç Z,2007). Frässdorf ve ark. yaptıkları bir çalışmada morfinin önkoşullamayı

Ca⁺² duyarlı mitokondriyal K⁺ kanallarını aktive ederek yaptığını saptamıştır(Frässdorf J,2010).

İzole kalplerde yüksek konsantrasyonda fentanil, kardiyak koruyucu etkisini δ opioid reseptörleri, adenozin A₁ reseptörleri, K_{ATP} kanalları ve protein kinaz C aracılığı ile yaparken naloksonla bu etki ortadan kalkar. Fentanil, nötrofil adezyon ve migrasyonunu azaltarak inflamasyonu hafifletir(Zaugg M,2002).

Rat ve tavşanlarda miyokarda uygulanan birkaç farklı İ/R çalışmasında remifentanil iskemiden önce uygulanmış ve tetrazolium triklorid ile infarkt alanının belirgin olarak azaldığını bulmuştur(Zhang Y, 2000;Zhang Y,2005;Kuzume Ko,2004).

Volatil anestezikler, adenozin A₁ ve A₃ (A₁/A₃), bradikinin₂, opioid, α adrenerjik, β adrenerjikreseptörler, fosfolipaz-C'yi aktive eder ve K_{ATP} açılmasını sağlar (Lorsomradee S,2008).

İskemik postconditioning (Ardkoşullama)

Ardkoşullama; iskemi sonrası reperfüzyonun başlangıcında kardiyoprotektif farmakolojik ajan ile yada değişen aralıklarla miyokardiyal İ/R uygulamasıyla ortaya çıkan kardiyak korumadır.İskemik postconditioning de etkili mekanizmalar halen belli değildir.

Ard koşullama 2003'te ilk defa Zhao ve ark. köpeklere in vivo üç siklus 30 saniyelik sol desendan arter (LAD) oklüzyon ve reoklüzyonu sonrasında 1 saat iskemi ve 3 saat reperfüzyon yapıldığında infarkt alanında belirgin bir azalma olduğunu tespit ettiler (Zhao ZQ,2003).

Obal ve ark. sevofluran 1minimum alveoler konsantrasyonda iken,ardkoşullamayı indükleyerekmaksimum kardiyak koruma sağladığını tespit etmiştir (Obal D,2001)

Feng ve ark. ise izofluran tarafından indüklenen ardkoşullamada mPTPetkili olduğunu bulmuştur(Feng J,2005).

Reperfüzyon hasarını önlemeye yönelik çalışmalar

Reperfüzyonla meydana gelen inflamasyonun basamaklarına ait mediyatörleri inhibe ederek hasar engellenmeye çalışılmıştır.

Nötrofil aracılı hasarın temelini SORMeydana getirdiği için çalışmalarda antioksidan ajanların tesirine bakılmıştır.

İskemi esnasında endotel işlevinin kaybı, SOR aracılığı ile NO miktarını azaltarak reperfüzyon hasarını artırdığı için; L-arginin veya diğer NO donörlerinin kardiyoplejik solusyonlara ilave edilmesinin doku hasarını hafiflettiği bulunmuştur.

Invivo çalışmalarda, araştırmacılar L-selektin ve ICAM-1'e karşı monoklonal antibody moleküllerini kullanıp adezyon molekül blokajı ile reperfüzyon hasarını hafifletmiştir.

Reperfüzattaki nötrofilleri azaltması için kemoterapi uygulaması,olumsuz etkilerinin de fazla olması sebebiyle kullanımına sınırlamalar getirmiştir.

Genetik olarak endotel aktivasyon proteinlerini kontrol etmek, reperfüzyon hasarının tedavisinde yeni umutlar sağlayacaktır.

Günümüzde iskemi reperfüzyon hasarını önlemede ki tek silahımız iyi myokard korumasıdır. Reperfüzyon hasarını engellemek için uygulanan deneysel ve klinik çalışmalar henüz yaygın kabul görmese de yeni çalışmalar ile netliğe kavuşacaktır. Bu çalışmalar;

- Sodyum-hidrojen değişimi inhibitörleri
- Ca²⁺ antagonistleri
- Antioksidanlar ve serbest radikal skavengerleri
- Adenosine ve adenosine reseptör agonistler
- Kompleman sistem inhibitörleri
- Nötrofil inhibitörleri
- NO ve donörleri
- Endotelin-1 reseptör antagonistleri
- Renin-angiotensin sistem antagonistleri
- Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
- Bazı inhalasyon anestetikleri (isoflurane)
- Kardiopleji lökosit filtreleri
- N-asetilsistein
- Aprotinin(Aykut Aka S, 2004).

2.2. Nöroaksiyal Bloklar

Epidural anestezi

Epidural anestezi; duradan çıkan spinal sinirlerin epidural aralıkta intervertebral foramenlere uzanırken anestetize edilmesiyle yapılan bölgesel anestezi yöntemidir. Esas olarak duyuşal ve semptomimetik lifler bloke olurken, motor sinirler de kısmen yada tamamen bloke olabilir.

Tarihçe

James Leonard Corning 1885 de bir köpek ve bir insana spinal aralıktan ilk defa kokain vermiştir. Epidural anesteziyi Cathelin ve Sicard 1895'te sakral bölgeden,Pages ise 1921'de lumbal bölgeden uygulamıştır. 1949'da Touhy epidural blokta kullanmak için subaraknoid iğneyi geliştirirken Curbelo ise ilk defa epidural katateri yerleştirilmiştir. Dogliotti kitabında, epidural anesteziyi ayrıntılı anlatmasıyla 1960'lı yıllardan sonra epidural anestezi uygulaması artmıştır.Temel bölgesel anestezi ve analjezi yöntemi haline gelmiştir (Erdine S, 2008).

Anatomi

Vertebral kolon; 33 vertebra (7 servikal, 12 torakal, 5 lomber, 5 sakral ve 4 koksigeal) dan oluşur.

Spinal kanal; foramen magnumdan başlayarak bebekte 3. lomber vertebraya, erişkinde ise 1. veya 2. lomber vertebraya kadar uzanan, medulla spinalisi ve onu çevreyen zarları içeren kemik kanalıdır.

Spinal kord ise foramen magnum hizasından başlar, yukarda medulla oblongata ile devam ederken, aşağıda konus medullaris olarak yetişkinde 1. lomber vertebra, bebeklerde 3. lomber vertebra seviyesinde sonlanır ve yaş arttıkça yukarı çıkar.

Spinal kord içten dışa piamater, araknoidmater ve duramater olmak üzere 3 zar ile çevrilidir. Piamater çok ince ve vasküler yapıdan zengin olup spinal kord ve beyne yapışiktir. Araknoidmater nonvaskülerdir ve duraya yakın komşuluğu vardır. Spinal ve epidural anestezi yapılırken bazen istenmeden subdural aralığa girilip tek taraflı, yamalı yada beklenmedik yüksek anestezi meydana gelebilir(Miller RD, 2010).

Epidural alan, foramen magnumdan başlayıp sakral hiatusa kadar devam eder. Epidural aralık, intrakranial boşlukta devam etmediği için verilen ilaçlar 1. servikalden yukarıya çıkmaz. En dar önde olup, en geniş olarak arkada bulunur. Normal kişide cilt-epidural aralık mesafesi 4-5 cm'dir. Servikal seviyede 1-1,5 mm, üst torakalde 2,5-3 mm, alt torakalde 4-5 mm ve lomber seviyede 5-7 mm genişliğindedir ki; bu farklılık seviyesine göre yapılan anestezi ilaç miktarında farklılıklara neden olmaktadır. Epidural alan sinir kökleri, yağ dokusu, gevşek areolar doku, lenfatikler ve kan damarlarını içerir. Pek çok kişide lomber bölgede epidural alanın ortasında dorsomedian fibroz doku vardır. Epidural aralıktaki ençok yağ dokusu bulunur ki; yağda eriyen bupivakain gibi lokal anestezi ilaçları uzun süre etkisini gösterebilir. Epidural aralıktaki venler, vena cava obstruksiyonu nedeniyle büyük abdominal kitleler ve gebelikte genişleyerek epidural aralığı daralttığı için bu kişilerde ilaç dozunu azaltıp, öksürük ıkınma gibi epidural ven dolgunluğunun arttığı zamanlarda enjeksiyon yapılmaması gerekmektedir.

Epidural aralığı tanıma yöntemleri

A. Negatif basınç yöntemi

Epidural aralıktaki negatif basınç olmasına dayanır.

1. Asılı damla yöntemi (Guitterez)
2. Kapiller tüp yöntemi (Odom)
3. Monometri yöntemi (Dogliotti, Zelenka)

B. Direnç kaybı yöntemi

Epidural iğne, interspinöz ligament ve ligamentum flavumdan geçerken hissedilen direncin aniden kaybolması esasına dayanır.

- 1.Enjektör yöntemi (Dogliotti, Lund)
- 2.Yaylı şırınga yöntemi (Brunner, Ikle)
- 3.Balon yöntemi (Macintosh)
- 4.Brooke yöntemi
- 5.Dawkins'in dikey tüpü
(Güldoğan F, 2013).

Epidural blok endikasyonları

- 1.Cerrahi endikasyonlar;
 - Özellikle yüksek riskli akciğer hastalığı olan alt batin, pelvik, perineal, feokromasitoma, alt ekstremitte ve damar cerrahisi operasyonlarında
 - Genel ve spinal anestezi kontrendike iken
 - Yüzeyel anestezi ile beraber
- 2.Obstetrik endikasyonlar
 - Ağrısız doğum
 - Sezaryen
 - Preeklampsi, eklampsi varlığında
- 3.Terapotik endikasyonlar
 - Kronik ağrı tedavisi
 - Postoperatif ağrı tedavisi
 - Periferik damar hastalığı olan kişilerde sempatektomi yararının belirlenmesinde ve alt ekstremitte trombozla beraber olan spazmların tedavisinde
 - Dissekan aort anevrizması, akut pankreatit, mezenter damar trombozlarında viseral ağrıyı gidermek için (Kayhan Z, 2004).

Epidural blok kontrendikasyonları

Kesin Kontrendikasyonlar

- 1- Hastanın istememesi
- 2- Kanama ve pıhtılaşma bozukluğu, antikoagülan tedavi
- 3- Kanama ve şok
- 4- Sistemik veya lokal enfeksiyon
- 5- İşlem bölgesinde dermatolojik hastalık olması-psöriazis
- 6- Lokal anestezi maddeye duyarlılık
- 7- SSS hastalıkları, intrakranial basıncın yüksek olması
- 8- Hekimin deneyimsiz olması(Kayhan Z, 2004).

Göreceli Kontrendikasyonlar

- 1- Vertebral kolon deformiteleri, osteoporoz, artrit
- 2- Aort stenozu, konjestif kalp yetmezliği

- 3- Nörolojik hastalıklar
- 4- Mini doz heparin
- 5- Aspirin veya diğer antiplatelet ilaçlar
- 6- Kronik baş ve bel ağrısı olanlar
- 7- Kooperasyon kurulamaması
- 8- Süresi belirsiz ve acil cerrahi(Kayhan Z, 2004;Erdine S,2005).

Kardiak cerrahide epidural anestezi ve analjezi

Epidural ve spinal blokların kardiyovasküler etkileri, α_1 ve adrenerjik blokerlerin etkilerine benzer olup, kalp atım hızı (KAH) ve arteriyel kan basıncı azalabilir. Sempatik blok seviyesi duyuşal bloğun 2-6 dermatom üzerindedir. Arteriyel ve venöz dilatasyon olur ki venöz sistem, kanın %75'ini içerdiği ve düz kasları az olduğu için arterial sistemden daha çok etkilenir. Sempatik blokaj sonucu sağlıklı normovolemik bireylerde periferik vasküler dirençte %15-18 azalma olurken, kardiyak debi değişmez. Yaşlı, kalp hastalığı olan hastalarda ise kardiyak debi %10 ve sistemik vasküler direnç %25 azalabilir.

Yüksek torakal epidural analjezi ile kardiyak sempatik innervasyon (torakal 1-5) selektif blokajı sağlanmaktadır (Ferrante FM,1993).Torakal epidural yolla verilen lokal anestezikler, kalp atım hızını (KAH), arter basıncını, kalp debisini, kalbin ön ve arka yükünü, ventrikül dolum basıncını, sistemik vasküler direnci, pulmoner arter ve pulmoner kapiller uç basıncını, plazma katekolamin seviyelerini düşürerek miyokardın oksijen sunum ve gereksinimini azaltmaktadır (Pöpping DM,2014).Yüksek torakal epidural analjezi sempatik adrenerjik yanıtı baskıladığı için, operasyon esnasında hemodinami daha stabil seyretmekte,antiiskemik ve miyokard koruyucu etkisi ile iskemik kalp hastalarında ameliyat sırasında miyokard iskemisi ve infarktüs oranı azalmaktadır (Beattie WS, 2001;Kock M,1990).Toraks cerrahilerinden sonra ağrı kontrolü daha iyi olduğu için, solunum sistemine ait problemler daha az görülmekte, daha hızlı derlenme, daha erken ekstübasyon, yoğun bakım ve hastanede kalış sürelerinin azaldığı bildirilmiştir (de Leon-Casasola OA,1994).

2.3. Opioidler

Opium (afyon), tam olgunlaşmamış papaver somniferum bitkisinin tohum kapsülleri çizildiğinde açığa çıkan beyaz sıvının hava ile teması sonucu kararması ve sakız kıvamına gelmesiyle elde edilir (Erdine S, 2007).

Opioid doğal ve sentetik,morfin benzeri,endojen peptitleri de içeren genel bir terimdir. Opioidler opioid reseptörleri ile olan ilişkilerine göre agonist,parsiyel agonist, miks agonist-antagonist ve kompetitif antagonistleri kapsar.Opioidler kimyasal özelliklerine göre doğal, semisentetik ve sentetik olarak sınıflandırılırlar (Gutstein HB, 2001).

Doğal opioidler Fenantrenden türeyenler; morfin, kodein, tebain
Benzilkinoleinden türeyenler; papaverin

Semisentetik opioidler Dihidromofin, heroin, Tebain deriveleri (etorfin, buprenorfin)

Sentetik opioidler Morfin serisi; levorfanol, butarfanol

Difenilaminpropilamin serisi; metadon

Benzomorfan serisi; pentazosin

Fenilpiperidin serisi; meperidin, fentanil, sufentanil, alfentanil, remifentanil

Opioidlerin etki mekanizması ve reseptörleri

Opioidler etkilerini merkezi ve periferik sinir sistemine ayrıca üreme sistemi, kromaffin hücreleri, immun sistem gibi diğer sistemlere dağılan endojen opioid sistemini aktive ederek gösterirler (Erdine S, 2007).

Opioidler kendine ait reseptörlere bağlanarak etkisini gösterirler.

Mü (μ) reseptörü: μ reseptörleri beyin ve omurilikde bulunur. Morfin ve benzeri ilaçlar μ reseptörüne bağlanır. μ_1 ve μ_2 ve μ_3 alt sınıfları vardır. μ_1 analjeziden, μ_2 bulantı-kusma, solunum depresyonu, gastrointestinal motilitede azalmadan, μ_3 ise immünsupressif etkiden sorumludur. Seçici μ_1 agonisti olan ilaçların bulunması solunum depresyonu yapmadan analjezi sağladığı içingelecekteki çalışmalara yol gösterici olabilir.

Delta (δ) reseptörü: Enkafalin endojen agonistidir. δ_1 ve δ_2 olmak üzere iki alt tipi vardır. Spinal ve supraspinal analjeziden sorumlu olup morfinin analjezik etkisini güçlendirdiği düşünülmektedir.

Kappa (κ) reseptörü: Dinorfin endojen agonistidir. κ_1 , κ_2 ve κ_3 olmak üzere üç alt sınıfı vardır. Spinal analjezi, sedasyon ve miyozisten sorumludur.

Epsilon (ϵ) reseptörü: β -endorfin endojen agonistidir. Hormonal etkilerden sorumludur.

Sigma (σ) reseptörü: N-allilnonetazosin agonistidir. Disfori, halüsinasyon, solunum ve vazomotor stimülasyonun oluşmasına sebep olur. Nalokson ile bu etkiler geri döndürülemez.

Opioid-benzeri reseptör (ORL-1): Nosisseptin, endojen bağlayıcısıdır. Bu reseptörlerin işlevi tam olarak bulunamamıştır. Anksiyete ve hiperanaljeziye sebep oldukları söylenmektedir.

Opioid ilaçlar ve endojen opioid peptitleri, reseptörlere bağlanıp benzer şekilde etki gösterirler. Opioid reseptörünün aktivasyonu, adenil siklaz inhibisyonu yaparak ve iyon kanallarına etki ederek (K^+ iletimi artarken, Ca^{+2} kanal aktivitesi azalır) membran ekstabilesini azaltır. Protein fosforilasyonunun değişmesiyle hedef genlerin ekspresyonu

değişir. Gen ekspresyonlarının değişmesi tolerans ve bağımlılığı açıklamada yol gösterici olabilir(Erdine S, 2007).

Opioidlerin Farmakodinamik Etkileri

Santral sinir sistemi

Opioidler santral sinir sistemine etkilerini daha çok μ reseptörleri üzerinden gösterir. Tekrarlayan dozlarda verildiklerinde bu etkilerden bazılarında tolerans gelişir.

Analjezi: Opioidler hem spinal hemde supraspinal düzeyde pek çok bölgeyi etkileyerek analjezik etkilerini gösterir. Opioidler nosiseptif ağrılara iyi yanıt verirken, nöropatik ağrılarda çok etkili değildir. μ reseptör agonist uyarıları analjezik iken κ reseptör agonistlerin uyarıları analjezik ya da antianaljezik olabilir (Pan ZZ, 1997).

Öfori, disfori: Ağrılı kişilerde kaygıyı kaldırıp hoş duygular oluştururken, normal kişilerde huzursuzluk ve yorgunluğun hakim olduğu disforiye neden olur.

Sedasyon: Uyku hali ve mental bulanıklık sık olsa da amnezi yok denecek kadar azdır.

Solunum depresyonu: Opioidler, beyin sapındaki solunum merkezinin başlıca karbondioksite duyarlılığını azaltarak doza bağımlı spontan solunumu deprese eder. Akut zehirlenmelerde ölümün temel sebebi solunum depresyonudur. Solunum depresyonuna bağlı parsiyel karbondioksitin (CO_2)'in artması serebral vasküler dilatasyon, hafif ve geçici intrakranial basınç artmasına neden olabilir.

*Öksürük refleksinin baskılanması:*Kodein öksürük refleksini baskılamada en etkin ajan olmasına rağmen sekresyonların birikmesiyle solunum yolu tıkanmasına ve atelettazilere sebep olabilir.

Miyozis: Opioid analjeziklerin hepsi pupillalarda konstriksiyona neden olur.Miyozise karşı tolerans gelişmediği için opioid zehirlenmesinin en önemli bulgusudur.

Kas rijiditesi: Büyük gövde kaslarının tonüsünü artırıp kas rijiditesine neden olabilir.

Bulantı ve kusma: Beyin sapındaki kemoreseptör trigger zonu ve vestibüler sistemi uyararak bulantı ve kusmaya neden olurlar.

Kardiyovasküler sistem:

Terapotik dozlarda kan basıncına, kalp hızı ve ritmine önemli etkileri yoktur.

Morfin, meperidin ve kodein mast hücrelerinden histamin salınmasına neden olur ki bu da periferik arteriolar ve venöz dilatasyon, arterial kan basıncında ve sistemik vasküler direçte önemli düşüslere neden olur.

Opioidlerin neden olduğu en önemli kardiyovasküler etki nükleus nervi vaginin santral stümülasyonuna bağlı bradikardidir. Vagal uyarı sempatik aktivitede azalma, periferik vazodilatasyon ve ortalama arter basıncında (OAB) düşmeye neden olur (Freye E,2008). Meperidin ise yapısal olarak atropine benzediği için kalp hızını artırma eğilimdedir (Morgan GE, 2008).

Opioidler, sebep olduğu bradikardi ile periferik direnci azaltarak ve kalbin ön yükünü hafifleterek miyokard iskemisi olan hastalarda faydalı olabilir(Freye E,2008).

Nöroendokrin sistem

Luteinizan hormonun salınmasını azaltırken antidiüretik hormon, prolaktin ve somatotrapinin salınmasını artırır.

Gastrointestinal sistem

Opioidler peristaltizmiazaltır ve konstipasyona neden olur. Oddi sfinkter kasılmasıyla bilier koliğe neden olabilir.

Genitoüriner sistem

Opioidler idrar retansiyonuna yol açar. Uterus tonusunu yavaşlatır ve bilinmeyen bir mekanizma ile doğumun başlama süresini uzatır.

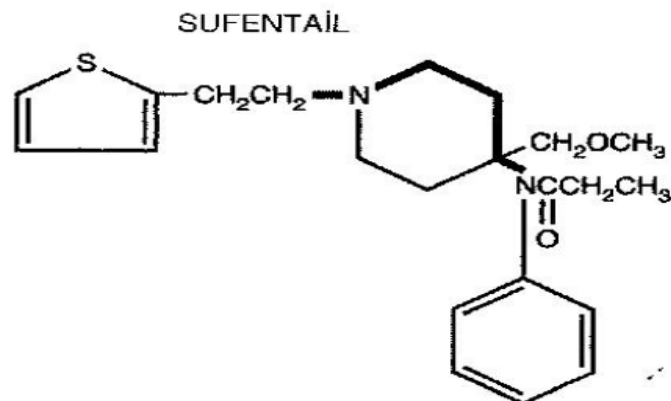
İmmun sistemi baskılar.

Deride kızarıklık, terleme ve kaşıntı yapabilir ki bunlar histamin salınmasıyla ilişkili olabilir.

2.4. Sufentanil

Moleküler formülü C₂₂H₃₀N₂O₂S. C₆H₈O₇

Kimyasal adı N-(metoksimetil)-1-(2-(2-tiyenil) etil (-4-piperidinil (-N-fenilpropan-1-yl) karboksilat, pH; 4.5-7.0 arasındadır. Dağılım sabiti Log P=3.95'dir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1.Sufentanilin kimyasal yapısı(Morgan GE,2008).

Sufentanil, fentanilin thienyl türevidir. Morfinden 800 kat, fentanilden 5-7 kat daha potent bir analjeziktir(Freye E,2008). Sufentanil yüksek selektif μ reseptör agonistidir.

Farmakokinetik özellikleri

Sufentanil, fentanile benzer farmakokinetik özelliklere sahip olmakla birlikte oldukça lipofildir.Fentanile göre plazma proteinlerine (özellikle α_1 -asid glikoprotein) yüksek oranda bağlandığı için fizyolojik pH da daha az iyonize, dağılım hacmi daha küçük, eliminasyon yarı ömrü (2,2-4,6 saat) kısadır. Karaciğerden metabolizması N-dealkilasyon ve O-demetilasyonladır. Sirozlu hastalarda, sufentanilin klirensi ve eliminasyon yarı ömrü kontrol hastalarıyla benzerdir (Chauvin M,1989).Obez kişilerde dağılım hacmi daha büyük olduğu için eliminasyon yarı ömrü daha uzundur(Schwartz AE, 1991).

Farmakodinamik özellikleri

Solunum sistemi etkileri:

Sufentanil de diğer μ opioid reseptör agonistleri gibi doza bağlı olarak solunumu baskılar. Normal gönüllülere fentanil ve sufentanil bolus uygulandığında end tidal CO₂ değişikliği benzer olurken fentanilde CO₂'e ventilatuar yanıt eğilimi daha fazla deprese olmaktadır (Bailey PL, 1990).

Kardiyovasküler etkiler:

Sufentanili esas alan birçok çalışmada, yüksek doz opioid anestezisinde (30 μ g/kg'a dek) sufentanil belirgin olarak hemodinamik kararlılık sağlar. Kardiyopulmoner bypass sırasında ve sonrasında yüksek indüksiyon dozlarında (20 μ g/kg) bile kortizol, katekolamin, glikoz, serbest yağ asitlerinde artışı önlemiştir(Bovill JG, 1983).

Adam F ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sufentanilin histamin salınımına yol açmadığı belirtilmiştir(Adam F,2001).

Santral etkiler:

Sufentanil hayvanlarda sistemik ya da spinal yolla verildiğinde güçlü analjezik etkilerinin olduğu bulunmuştur.

Yüksek dozlarda, hipnoz ve/veya anestezide yol açabilir. Sufentanil ve fentanilin eşdeğer analjezik dozu elektroensefalogramda benzer değişiklikler yapar. 15 μ g/kg

sufentanil elektroensefalogramda birkaç saniyede α aktivitesine neden olurken 3 dakika içinde tümüyle yavaş δ dalgası aktivitesi gözlenir(Monk JP, 1988).

Sağlıklı gönüllülerde 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sufentanil serebral kan akımını değiştirmezken (Mayer N, 1990) intrakranial tümör olgularında 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sufentanil serebrospinal basıncı artırıp serebral perfüzyon basıncında azalmaya neden olmuştur(Marx W, 1989).

Sufentanil ile 1-2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ anestezi indüksiyonunda ve ayılma sürecinde, nöbeti taklit eden rijidite ve myoklonik aktivite gözlenmiştir(Smith NT, 1989).

Miyozis, doz ile ilişkili olup, şiddetli hipokside miyozis midriyazise dönüşmektedir.

2.5. Epidural Opioidler

Opioidler epidural yoldan uygulandıklarında; ekstradural yağ dokusuna bağlanarak (hızlı ve kısa etki), epidural venöz sisteme ve dolayısıyla sistemik dolaşıma katılarak, posterioradiküler spinal arterlere girip dorsal boynuza direk etki ederek (dorsal bölge opioid reseptörlerinden zengindir.), durayı geçip araknoid granüllere difüzyonla geçip beyin omurilik sıvısında santral etkilerini gösterirler(Vade Boncouer TR,1993). Fentanil ve sufentanilin lipofilik olması morfin gibi hidrofilik bir ilaca göre etkisinin hızlı başlamasına neden olur.

Epidural opioidlerin yan etkileri

Nöroaksiyal opioid uygulaması sonrası ciddi yan etkilerintravenöz (iv) uygulamalardan daha azdır.

Geç solunum depresyonu; en tehlikeli yan etkisidir. En önemli nedeninin beyin omurilik sıvısından solunum merkezine yavaş yavaş yayılması olduğu düşünülmektedir. Sıklığı %0,1-1 dir. Lipofilik opioidler (fentanil, sufentanil, petidin) hidrofiliklerden (morfin) daha güvenilirdir. Epidural opioid alan hastaların en az 12 saat izlenmesi gerekir.

İdrar retansiyonu; epidural morfinin detrusor kasının kasılma gücünü azalttığı ve mesane hacmini artırdığı gözlemlenmiştir ki bu etki nalokson ile ortadan kaldırabilir. Fakat nalokson analjezik etkiyi de kısmen çevireceği için mesane ilk 6 saat sonda ile boşaltılırsa distansiyona bağlı miyojenik mesane hasarı önlenmiş olur.

Kaşıntı; %5-10 oranında görülür. Analjeziyi azaltmadan düşük doz opioid antagonistleri, antihistaminik, propofol kullanılabilir.

Bulantı, kusma; medullada kemoreseptör triger zonun uyarılmasına bağlıdır.

Sedasyon

Erken solunum depresyonu; Doza bağılı olup damar yolu ile sistemik dolaşıma geçiş oranı ile doğru orantılıdır(Erdine S, 2000).

Opioidlerin iskemi reperfüzyon üzerine etkileri

Opioidlerin IO'u taklit edip infarkt büyüklüğünü azalttığı bulunmuştur(Schultz JEJ,1996). IO yapılan kalbi, κ opioid reseptörlerinin aktiflenmesi aritmilere karşı korur. δ_1 opioid reseptörünün uyarılması kalp hücrelerinde oksidan stres ve hücre ölümünü azaltırken, κ opioid reseptörü ventriküler fibrilasyondan sorumlu tutulmaktadır(Kato R,2000).Remifentanilin koruyucu etkisi ise kalbin dışındaki μ agonist aktivitesinden kaynaklanmaktadır (Stefano GB, 1998).

2.7. Apoptozis

Eski yunan dilinde sonbaharda sararmış yaprakların dökülmesi anlamına gelen apoptozis, organizmanın düzenlediği enerji bağımlı, programlı hücre ölümü demektir. Apoptozis ile dokulardaki hücre sayısının sabit tutulması sağlanır. Ayrıca DNA'sı hasarlı hücreler apoptozise yönlendirilerek bu hücrelerin kanserleşme potansiyeli ortadan kaldırılmış olur.

Apoptozise giden hücrelerde spesifik sinyallere bağlı biyokimyasal ve morfolojik değişiklikler olur. Morfolojik olarak sitoplazmada hücre iskeletini oluşturan aktin ve lamin proteinlerinin bölünmesiyle hücre küçülmeye başlar. Çekirdekde ise kromatin ve nükleer yapısal proteinler parçalanır ve nükleus genelde at nalı şeklini alır. Makrofajların apoptotik hücreleri tanıyabilmesi için plazma membranında dönüşümler meydana gelir. Örneğin fosfatidilserin birimleri hücre içinden dış yüzeye gelir. Membran kabartıları şeklinde olan değişikliklerle apoptotik süreç sonunda apoptotik body denen küçük veziküler yapılar gözlenir (Assuncao Guimaraes C, 2004).

Apoptotik markerlar (Kaspaz-3, Kaspaz-9, Bax (Bcl-2-associated X protein), Bcl-2, p53 Proteinleri)

Apoptozun regülasyonu bcl-2 / bax gen ailesi ile sağlanır. 20 üyesi tanımlanan bu gen ailesindeki genlerin bazıları antiapoptotik (Bcl-2), bazıları ise proapoptotiktir (Bax,p53) (Nagata S, 1997). Apoptotik sinyalin alınmasıyla Bax proteinleri, mitokondri zarının iyon geçirgenliğini azaltarak sitokrom c ve inhibitör apoptotik faktör gibi mitokondride bulunan faktörlerin sitoplazmaya geçmesine sebep olur (Kaneda K,1999).İnhibitör apoptotik faktör direk hasarlı DNA'a yönelirken, sitokrom c bir sitoplazma proteini olan apoptozis aktive edici faktör-1'e bağlanarak prokaspaz-9 ile kompleks oluşturur ki buna apoptosom denir. Apoptosom prokaspaz-9'u aktifler. Aktif kaspaz-9 ise efektör kaspazlardan prokaspaz 3'ü aktive eder (Nagata S,1997). Kaspazların temel görevleri ise DNA polimeraz enzim aktivitesini önleyerek hücrenin apoptozisle yok olmasını sağlamaktır.

P53 proteini ise tümör baskılayıcı gen olarak da bilinir ve hücrede DNA hasarı oluştuğunda hücrenin G1 safhasında kalarak S safhasına geçişini durdurmaktadır. DNA hasarı onarılacak düzeyde ise DNA tamir enzimlerinin sentezini sağlayarak DNA'ı onarmakta, fakat bu hasar onarılamayacak düzeyde ise bax proteininin sentezini uyararak hücrenin apoptozise uğramasını sağlamaktadır (Sawada M, 2000; Nehls O,2007; Mousavi SH,2009; Millau JF, 2010).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma; Necmettin Erbakan Üniversitesi Konüdam Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul merkezinde 12.02.2014 tarihinde 014-014 sayılı karar ile etik kurul onamı alındıktan sonra Necmettin Erbakan Üniversitesi Konüdam Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapıldı. Deneklerden alınan doku örnekleri Histoloji ve Biyokimya anabilim dallarında, kan örnekleri ise Biyokimya Anabilim Dalı'nda incelendi. Proje finansmanı olarak 141518009 nolu proje numarası ile Necmettin Erbakan Üniversitesi bilimsel araştırma projesinden maddi destek alındı.

Ağırlıkları 1600-3920 gram arasında, 64 adet New Zeland cinsi (35 si erkek, 29 i dişi) tavşan kullanıldı. Çalışmadan önce deneklere su ve yiyecek kısıtlaması yapılmaksızın 12 saatlik ışık ve karanlık siklusa bakıldı. Serum incelemeleri için sham grubunda 7 diğer gruplarda 8 denek, doku incelemeleri için ise sham grubunda 5 diğer gruplarda 6 denek kullanıldı.

Cerrahi Hazırlık

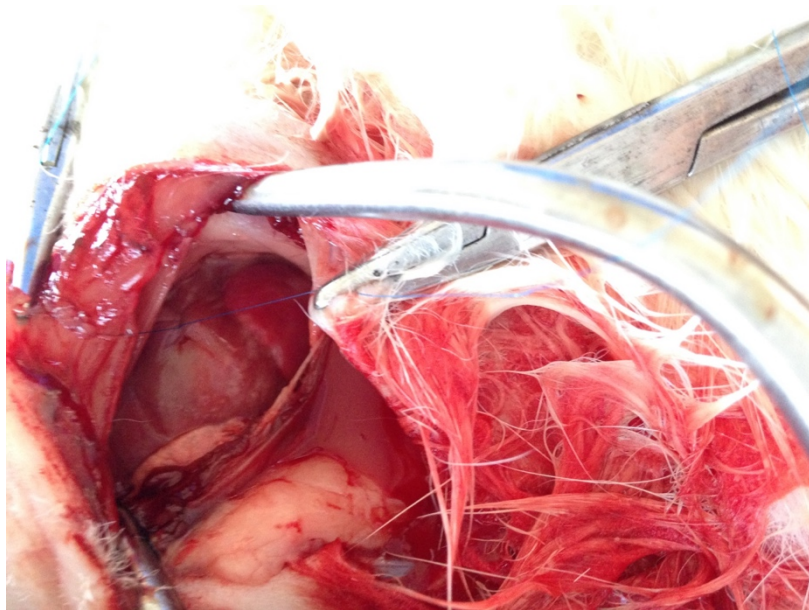
Cerrahi işlem öncesinde tavşanlar tartıldı. Ketamin hidroklorür (35 mg/kg, Ketalar® 50 mg/mL, Pfizer, Türkiye) ve ksilazin (14 mg/kg, %2 Xylazin Bio, 20 mg/mL, Bloveta Plc. Komenskeho, Çek Cumhuriyeti) her iki bacağa intramusküler uygulandı. Anestezi idamesinde, her 45 dk'da bir ve ihtiyaç olduğu zamanlarda 5 mg ketamin ve 4 mg ksilazin yapıldı. Sedatize olan deneklerin cerrahi alanları tıraş edildi ve denekler tahta bloğa sabitlenip %4 klorhekzidin ile silindi.

22 gauge kanül kulak lateral venine yerleştirildi. 10 ml/kg/s Ringer laktat solüsyonu perfüzyor (Perfusor® compact, Braun) yardımıyla deney süresince gönderildi. Göğüs ön yüzüne metal kısaçlı 3 lead elektrotlar yerleştirildikten sonra DII ve V5 derivasyonları takip edildi. Eksternal ısıtıcı ile ısıtılan tavşanların rektal ısı 37-38 °C'de sabit tutuldu. Boyun orta hattan kesisi ile cilt, ciltaltı dokular geçilerek trakeanın yanında sağ karotis artere 22 gauge kanül yerleştirip içinde heparinli serum fizyolojik olan transdüsere bağlanarak invaziv arteriyel kan basıncı münitörizasyonu yapıldı. Trakeotomi 20 numara bisturi ile açılıp 3 numaralı endotrakeal tüp takıldı (Resim 3.1).

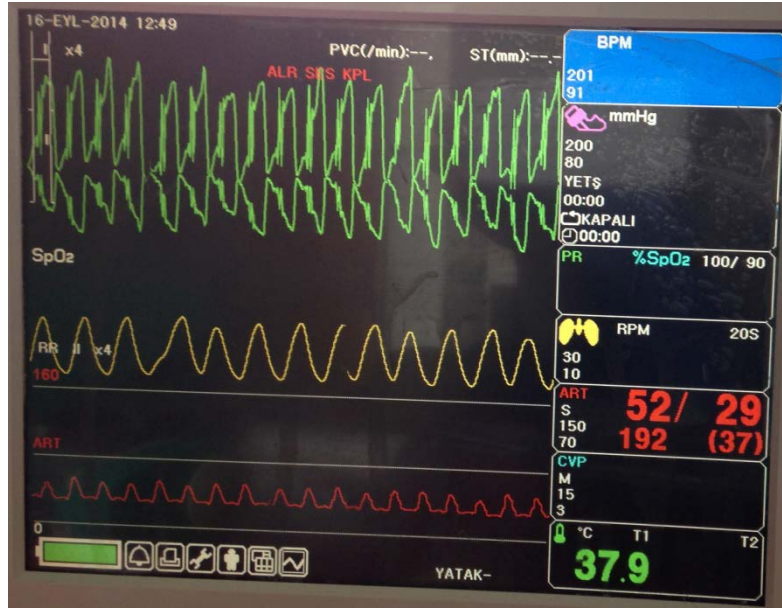


Resim 3.1. Cerrahi hazırlık

4.-5. interkostal aralıktan sol torakotomi açıldıktan sonra nondepolarizan nöromusküler bloker ajan (0,5 mg/kg rokuronyum bromüd, Esmeron® 10mg/ml Hameln Pharmaceuticals GmbH Hameln-Almanya) yapıp %100 oksijen ile 2L/dk'dan tidal volüm 10 mL/kg, solunum sayısı 30-35/dk olacak şekilde (AMS, Türkiye) manuel ventile edildi. Kalbe ulaşip perikard açıldı. Sol atriyal apendajın hemen altından apexe uzanan LAD'ın etrafına 5.0 prolen ip geçirildi. 10 dakika stabilizasyon için beklenip kulak veninden 500ünite heparin yapıldı. İskemi gruplarında LAD'ın etrafında 5.0 prolen çevrilip uçları klempile cilde tutturuldu (Resim 3.2). 30 dakika iskemi uygulandı. Elektrokardiyografi de ST elevasyonu (Resim 3.3), LAD'ın beslediği alanlarda siyanoz ve hipokinetik dokular gözlenerek iskemi teyit edildi.



Resim 3.2. LAD oklüzyonu.



Resim 3.3.İskemi sırasındaelektrokardiyografi trasesi

Çalışma grupları ve deney protokolü

Altmışdört tavşan rastgele sekiz gruba ayrıldı. Kontrol grubundan bir tavşan iskemiye tolere edemediği için çalışma dışı bırakıldı. Çalışma altmışüç tavşan ile yapıldı. Çalışma gruplarında sol torakotomi yapıp perikard açıldıktan sonra denekler;

Cerrahi sham= LAD oklüzyonu hariç bütün cerrahi işlemler yapılarak 150 dk takip edildi.

I/R= 10 dk stabilizasyon için beklenip LAD sol atriyal apendajın hemen altından 5.0 prolen ile 30 dakika oklüde edildi. Ardından 120 dk reperfüzyon yapıldı.

eS+I/R= Epidural 5 mikrogram (μg) sufentanil verildikten sonra 10 dakika stabilizasyon için beklenip 30 dk iskemi ve 120 dk reperfüzyon uygulandı.

eS sham= Epidural 5 μg sufentanil verildikten sonra 150 dk takip edildi.

eS+iN+I/R= Epidural 5 μg sufentanil ve 0,04 mg iv verildikten sonra 10 dk beklenip 30 dk iskemi ve 120 dk reperfüzyon uygulandı.

eS+eN+I/R= Epidural 5 μg sufentanil ve epidural 0,04 mg nalokson verildikten sonra 10 dk beklenip 30 dk iskemi ve 120 dk reperfüzyon uygulandı.

iN+I/R= İv 0,04 mg nalokson verildikten sonra 10 dk beklenip 30 dk iskemi ve 120 dk reperfüzyon uygulandı.

iN sham= İv 0,04 mg nalokson verildikten sonra 150 dk takip edildi.

Hemodinamik parametreler

Torakotomi öncesi kalp atım hızı (KAH), ortalama arter basıncı (OAB) ve ısının bazal değerleri kaydedildi. Cerrahi işlemlerden sonra 10 dk stabilizasyon için bekleyip ikinci değerler kayıt edildi ve bundan sonra 15 er dk ara ile takipler yazıldı. 15. ve 30. dakikadaki değerlerin ortalaması 3.takip olarak kayıt edildi ki bu değerler I/R uygulanan gruplarda iskemi zamanına tekabül ediyor. Çalışmanın sonuna kadarki 15 dakika ara ile takiplerin ortalaması ise 4.değer olarak kayıt edildi ki bu dönem I/R uygulanan gruplarda reperfüzyon aşamasına denk geliyor.

Epidural enjeksiyon

Epidural enjeksiyonun yapıldığı gruplarda, tavşanın kuyruğu anüs hizasının 1-2 cm distalinden 20 numara bistüri ile kesildi. Kaudal epidural aralıktan 18 gauge epidural katater tahmini T4 seviyesine kadar yaklaşık 20 cm ilerletildi.

Epidural sufentanil (Sufenta 5 µg/mL, 10 mL ampul, Janssen-Cilag, Janssen Pharmaceutica N.V., Belçika) uygulanan gruplarda 5 µg sulfentanil, epidural nalokson (Nalokson Hidroklorür 0,4 mg/ml, 1mL ampul, Hospira, Inc, Laice Forest, IL 60045 USA) uygulanan grupta 0,04 mg nalokson total 10 dizyemde verildi (Erkin Y, 2015).

İmmunohistokimyasal ve biyokimyasal incelemeler

Tüm deneklerden, 50 mg ketamin ve hava intravenöz uygulama ile sakrifiye edilmeden önce kan örnekleri alındı. Kontrol grubundan 5 deneğin, diğer gruplardan 6 deneğin kalbi kurumasını önlemek için streç filme sarılarak -20°C'de 30 dk dondurulup 22 numara bistüri ile solatriyal apendajın altından 5 parçaya ayrıldı. Bu parçaların apex kısma yakın olan iki tanesi biyokimyanın doku incelemeleri için %0,9'luk sodyum klorür solüsyonuna koyuldu. Diğer üç parçası ise immunohistokimyasal incelemeler için ayrılıp %10 formaldehit solüsyonuna kondu.

Histolojik Doku Takibi

Alınan doku örnekleri dehidratasyon amaçlı alkol serilerinden geçirildi ve ksilol ile şeffaflaştırıldı. Dokular etüvden çıkarılan sıvı parafin içine alınarak bir gün boyunca oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra etüvde eritilen parafinden alınan dokular parafin bloklara alındı ve her bir bloktan 4 mikron kalınlığında parafin kesitler lizinli lamlara alındı.

İmmünohistokimyasal Metod

İmmunohistokimya için Thermo Scientific marka bcl-2 (PA5-27094), bax (Pa5-32269) ve caspase 3 (CPP32) Ab-4 primer antikörleri 1/100 oranında antikor diluent ile sulandırılarak kullanıldı.

1. Kesitler immunohistokimyasal boyama için 16 saat 60 C°'lik etüvde tutuldu.
2. 30'ar dakika iki saat değişim ksilen ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi.
3. Absolü, %96 ve %90'lık azalan dereceli alkol serilerinden geçirildi.
4. Endojen peroksidazı maskelemek için kesitler karanlıkta % 3'lük hidrojen peroksitte 5 dk bekletildi. 3 defa fosfat tampon solüsyonundan (PBS) geçirildi.
5. Antijenin geri dönüşümünü sağlamak için kesitler, içinde etilen diamin tetraasetik asit tamponu (pH=8) olan şaleye konarak mikrodalga fırında 5'er dakikalık periyotlarla 3 kere bekletildi. Mikrodalga fırından çıkarılan kesitler oda sıcaklığında 20 dakika soğumaya bırakıldı.
6. Kesitlere 20 dakika ultra block uygulandı.
7. 1/100 oranında sulandırılmış primer antikorlarla bir saat inkübe edildi.
8. 20 dakika ultra tek anti-polvalent biotinylated sekonder antikor uygulandı.
9. 20 dakika ultra tek horseradish peroxidase uygulandı.
10. 20 dakika kromojen dokulara uygulandı (20 ml aminoetil karbazol) kromojen+1 ml aminoetil karbazol substrat iyice karıştırıldı). Distile su ile çalkalandı.
11. 5 dakika mayer hematoksilen ile zıt boyama yapıldı. 3 dk çeşme suyunda yıkandı.
12. Kapama maddesi ile kapatıldı.

Değerlendirme kriterlerinde boyanmanın yaygınlığına göre 4 grup oluşturuldu.

Negatif: Hiç boyanma yok

+1: Zayıf boyanma var

+2:Orta derecede boyanma var (Cuce G, 2011)

TUNEL Metodu

Apoptotik hücreler in situ apopitozis belirleme kiti apopTag in situ apoptosis detection kit (Millipore) ile işaretlendi.

- Parafin giderme ve suya indirme: Doku kesitleri, 2x5 dk toluol, 2x5 dk absolü alkol, 3 dk %95 alkol, 3 dk %70 alkol'de bekletildi ve 5 dk PBS ile çalkalandı.
- Proteinlerin sindirilmesi: Kesitler proteinaz K (20µg/ml) ile oda ısısında 15 dk inkübe edildi.
- 2x2 dk distile su ile çalkalandı.
- Endojen peroksidazın maskelenmesi: Kesitlere PBS ile hazırlanmış %3 hidrojen peroksit ile 5 dk oda ısısında muamele edildi.
- PBS ile 2x5 dk yıkandı.
- Dengeleme tamponu: Lamların etrafı dikkatlice kurulanıp, kesitlerin üzerine 75µl dengeleyici tampon konulup, plastik lameller ile kapatıldı. 30 dk oda ısısında inkübe edildi.

- Terminal deoksinükleotidil transferaz enziminin uygulanması: Plastik lameller kaldırılıp etrafı kurulandı ve her lam üzerine 55µl terminal deoksinükleotidil transferaz enzimi konuldu ve plastik lameller ile kapatıldı. Nemli ortamda 37 °C etüvde 1 saat inkübe edildi.
 - Durdurma/Yıkama: Plastik lameller kaldırıldı ve kesitler durdurma/yıkama tamponu ile oda ısısında 10 dk yıkandı.PBS ile 3x5 dk yıkandı.
 - Anti-Digoksinin-Peroksidaz: Her kesit üzerine 65µl anti-digoksinin-peroksidaz konuldu ve üzerlerine plastik lameller tekrar kapatılarak oda ısısında 30 dk bekletildi.
 - Plastik lameller kaldırıldı ve kesitler PBS ile 3x5 dk yıkandı.
 - Renk reaksiyonu: Kesitlerin çevresi kurulandıktan sonra her kesit üzerine 75µldiaminobenzidine substrat solusyonu damlatıldı. 3-6 dk arasında pozitif renk reaksiyonu mikroskop altında tespit edildi.
 - Renk reaksiyonu oluşmasından sonra kesitler distile su ile 3x1 dk yıkandı.
 - Kesitler distile su ile 5 dk tekrar yıkandı.
 - Zıt Boya Uygulaması: Kesitler metil yeşili ile 1 dk. boyandı ve distile suda boyama durduruldu.
 - Fazla boyanın giderilmesi amacıyla kesitler 2x10 sn. %100 alkol ile ardından 30 sn tekrar %100 alkol ile çalkalandı.
 - Kapatma: Kesitler 2x2 dk. toluolde tutuldu. Toluolden çıkarıldıktan sonra entellan yapıştırıcı maddesi kullanarak kapatıldı.
- Herbir bloktan rastgele seçilmiş 5 görsel alan seçildi. Alan başına X200'de en az 100 hücre sayıldı. Apoptotik indeks hesaplanmasında apoptotik hücre/ toplamhücreX100% formülü kullanıldı (Wang Y, 2013).

Biyokimyasal değerlendirmeler

Deney hayvanlarından alınan venöz kan örnekleri biyokimya tüpüne alındı. Alınan kan örnekleri Hettich Rotina 46R (Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Almanya) marka soğutmalı santrifüj cihazında 4°C ve 1.000 g hızda 10 dakika santrifüj edilerek serumlar ayrıldı. Serum örnekleri parametreler çalışılincaya kadar New Brunswick U570 (New Brunswick Scientific, New Jersey, USA) buzdolabında -80°C'de saklandı.

Deney hayvanlarından alınan kalp doku örnekleri parametrelerin analizine kadar New Brunswick U570 (New Brunswick Scientific, New Jersey, USA) buzdolabında -80°C'de saklandı. Çözdürülen doku örnekleri tartılarak 10 kat (w/v) soğuk fosfat tamponu (50 mM, pH: 7.4) içerisinde mekanik homojenizatör (İka T10 basic ultra-turrax, Almanya) ve ultrasonik homojenizatör (Bandelin Sonopuls, Almanya) kullanılarak buz içerisinde homojenize edildi. Homojenatlar Hettich Rotina 46R (Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Almanya) marka soğutmalı santrifüj cihazında 4°C ve 10.000 g hızda 10 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar ayrıldı.

Serum örneklerinde tavşan CK-MB seviyeleri (Elabscience Biotechnology Co. Ltd., Wuhan, Çin) kitleri kullanılarak ELISA yöntemi ile ölçüldü. Kalp dokusu süpernatantlarında tavşan Kaspaz-3, tavşan bcl-2 ve tavşan bax seviyeleri (Elabscience Biotechnology Co. Ltd., Wuhan, Çin) kitleri kullanılarak ELISA yöntemi ile ölçüldü. Serum örnekleri ve kalp dokusu süpernatantlarında; TOS, TAS (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye), MDA seviyeleri (Oxford Biomedical Research, Missouri, ABD), tavşan IL-1 β , tavşan TNF α seviyeleri (Elabscience Biotechnology Co. Ltd., Wuhan, Çin) kitleri kullanılarak ELISA yöntemi ile ölçüldü. Kalp dokusu protein seviyeleri Pierce bicinchoninic acid-BCA (Thermo Scientific, Illinois, ABD) kitleri kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü.

ELISA kitlerinin yıkama sürecinde Biotek ELX 50 mikropate yıkayıcı (BioTek Instruments, Vermont, ABD) kullanıldı. Spektrofotometrik ölçümlerde Bio-rad Mikropate absorban okuyucu xMark (Bio-rad Laboratories, California, ABD) sistemi kullanılarak absorban konsantrasyon kalibrasyon grafiklerine göre sonuçlar hesaplandı.

Doku süpernatantlarında parametre sonuçları protein sonuçlarına bölünerek standardize edildi.

İstatistiksel Analiz

Veriler bilgisayarda istatistik yazılım programı (SPSS for Windows v.16.0, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) kullanılarak analiz edildi. Normal dağılıma uygunluk analizleri yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama+standart sapma ve sıklık tabloları ile gösterildi. Gruplar arası karşılaştırma Kruskal-Wallis varyans analizi ile yapıldı. Farklılığı yaratan grupları bulmak için Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı. Ölçümler arası farklılığı test etmek için Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon T testi kullanıldı. Tüm karşılaştırmalarda $p < 0,05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi. Sonuçlar tablolar yardımı ile gösterildi.

4. BULGULAR

Deneklerin ağırlıkları benzerdi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1.Grupların ağırlıkları (Ort±SD).

	Sham (n=7)	I/R (n=8)	eS+I/R (n=8)	eS (n=8)	eS+iN+I/R (n=8)	eS+eN+I/R (n=8)	iN+I/R (n=8)	iN (n=8)	P
Kilogram	2,6±0,6	2,6±0,4	2,8±0,5	2,7±0,6	2,7±0,6	2,5±0,4	2,5±0,4	2,6±0,5	0,528

Hemodinamik veriler ve ısı takibi

Gruplar arasında deneklerin rektal ısı değerleri arasında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$) (Tablo 4.2).

Kalp atım hızı (KAH) ve ortalama arter basıncı (OAB)'ndada gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 4.3) (Tablo 4.4).

Tablo 4.2. Rektal ısı değerlerinin karşılaştırılması (Ort±SD).

	T1	T2	T3	T4
Sham(n=7)	36,9±1,2	37,0±1,2	37,1±1,1	37,0±0,8
I/R(n=8)	37,6±0,7	37,5±0,7	37,4±0,5	37,0±0,7
eS+I/R(n=8)	36,8±1,2	36,3±1,1	36,4±0,9	36,5±0,9
eS(n=8)	36,4±0,8	36,4±1,0	36,6±1,0	36,8±1,0
eS+iN+I/R(n=8)	37,1±1,2	37,1±1,2	37,3±1,2	37,1±0,7
eS+eN+I/R(n=8)	37,1±0,9	37,1±0,8	37,1±0,6	37,3±0,4
iN+I/R(n=8)	37,4±0,8	37,3±0,7	37,0±0,5	36,9±0,6
iN(n=8)	37,3±1,1	37,1±1,0	37,1±1,0	37,0±0,9
P	0,392	0,33	0,596	0,713

T1; Torakotomi öncesi T2; iskemi öncesi T3; iskemi sırasında T4; reperfüzyon sırasında ısı değerleri.

Tablo 4.3. KAH değerlerinin karşılaştırılması (Ort±SD).

	T1	T2	T3	T4
Sham (n=7)	175,7±30,1	176,1±28,5	168,1±28,3	163,1±25,3
I/R (n=8)	162,0±23,2	158,6±12,4	169,8±18,7	178,1±22,9
eS+I/R (n=8)	186,2±29,8	170,1±36,8	168,4±33,3	174,4±25,3
eS (n=8)	170,1±21,6	176,8±33,6	156,9±37,8	170,0±34,7
eS+iN+I/R (n=8)	183,1±30,7	168,0±34,2	188,6±30,5	166,5±19,7
eS+eN+I/R(n=8)	171,8±22,5	166,5±25,3	176,3±29,1	178,3±11,9
iN+I/R (n=8)	170,0±22,0	171,6±33,3	177,1±32,3	176,6±34,0
iN (n=8)	156,0±26,0	153,7±33,5	157,7±21,1	165,9±21,1
P	0,426	0,766	0,487	0,841

T1; Torakotomi öncesi,T2; Iskemi öncesi T3; iskemi sırasında T4; reperfüzyon sırasında kalp atım hızı (KAH) değerleri.

Tablo 4.4. OAB değerlerinin karşılaştırılması (Ort±SD).

	T1	T2	T3	T4
Sham (n=7)	76,2±18,7	74,0±24,6	67,2±18,0	70,7±16,4
I/R (n=8)	71,6±20,5	76,5±27,9	64,9±14,9	69,1±15,6
eS+I/R (n=8)	66,3±26,5	58,5±19,1	61,0±12,1	63,4±13,8
eS (n=8)	71,1±21,3	57,0±9,0	60,7±15,9	74,7±20,7
eS+iN+I/R (n=8)	75,1±19,7	66,8±13,2	64,1±9,0	74,5±11,7
eS+eN+I/R(n=8)	68,1±20,9	69,1±21,5	64,9±21,6	61,6±7,2
iN+I/R (n=8)	81,1±17,7	75,8±13,9	67,3±8,5	74,6±14,2
iN (n=8)	80,0±12,5	77,6±21,0	70,7±11,3	69,1±8,7
P	0,805	0,263	0,835	0,337

T1; Torakotomi öncesi **T2**; İskemi öncesi **T3**; iskemi sırasında **T4**; reperfüzyon sırasında ortalama arter basıncı (OAB) değerleri.

Biyokimyasal değerlendirmeler

Doku ve serum TAS:

Doku TAS (dTAS) (p=0,000) ve serum TAS (sTAS) (p=0,038) aktivitesi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

dTAS= I/R-eS (p=0,024), I/R-iN (p=0,006), I/R+ iN- iN (p=0,031).

sTAS= eS+ iN+ I/R- iN (p=0,026).

Sufentanil ve nalokson antioksidan kapasiteye sahip gibi gözükmemektedir. Ancak naloksonun bu özelliği I/R altında önemli ölçüde azalmaktadır.

Doku ve serum TOS:

Doku TOS (dTOS) (p=0,276) ve serum TOS (sTOS) (p=0,149) aktivitesi gruplar arasında benzer bulundu.

Doku ve serum OSI:

Doku OSI (dOSI)(p=0,000) ve serum OSI (sOSI) (p=0,000) aktivitesi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlıdır.

dOSI farklılıkları= iN+I/R- iN (p=0,026), eS+eN+I/R-iN (p=0,003), iN-I/R (p=0,000), eS- eS+eN+I/R (p=0,011), eS-I/R (p=0,000), I/R- eS+I/R (p=0,015).

sOSI farklılıkları= eS- eS+iN+I/R (p=0,027), eS+eN+I/R- eS (p=0,003), I/R- eS (p=0,001), sham- eS+eN+I/R (p=0,011), sham-I/R (p=0,004), eS+eN+I/R- iN (p=0,013), iN-I/R (p=0,004).

Serum ve doku OSI, sufentanil ve nalokson grubunda I/R uygulanan gruba göre düşük bulundu. Ancak bu özellik I/R uygulaması ile serumda nalokson ve sufentanilde artış olurken, dokuda sadece naloksonda artış oldu.

Doku ile I/R+sufentanil grubunda fark olurken serumda fark olmaması serumda daha geç yansımaları ile ilişkili olabilir.

İskemi sırasında epidural sufentanilin antioksidan kapasitesi korunurken naloksonun antioksidan kapasitesi azalmaktadır.

Doku ve serum MDA:

Doku MDA (dMDA) ($p=0,000$) ve serum MDA (sMDA) ($p= 0,000$) aktivitesi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlıdır.

dMDA farklılıklar= eS-I/R ($p=0,001$), iN-I/R ($p=0,000$).

sMDA farklılıklar= sham-I/R ($p=0,000$), sham-eS+iN+I/R ($p= 0,047$), I/R-iN ($p= 0,007$), I/R-eS ($p= 0,016$).

Serum ve dokuda lipid peroksidasyonu I/R grubuna göre nalokson ve sufentanilde düşük bulundu. İskemi ile beraber bu ilaçlar uygulandığında lipid peroksidasyonuna etkisi bir miktar artmakla birlikte, I/R uygulanan gruptan istatistiksel olarak farklı değildi.

Doku ve serum IL1 β :

Doku IL1 β (dIL1 β) ($p=0,319$) ve serum IL1 β (sIL1 β) ($p=0,097$) aktivitesi gruplar arasında benzer bulundu.

Doku ve serum TNF α :

Doku TNF α (dTNF α) ($p=0,718$) aktivitesi gruplar arasında benzer iken, serumTNF α (sTNF α) ($p=0,000$) aktivitesi farklı bulundu.

sTNF α farklılıklar= eS-eS+iN+I/R ($p=0,027$), eS-eS+eN+I/R ($p=0,003$), I/R- eS ($p=0,001$), sham-eS+eN+I/R ($p=0,011$), sham-I/R ($p=0,004$), eS+eN+I/R-iN ($p= 0,013$), iN-I/R ($p=0,004$).

TNF α 'nın doku örneklerinde fark bulunmadı.

sTNF α seviyesi sham, sufentanil ve nalokson grubunda I/R grubuna göre daha düşük bulundu. I/R uygulanan tüm gruplarda sTNF α düzeyinde artış görüldü.

Doku kaspaz 3 ve doku Bax:

Dokuda kaspaz 3 (dkaspaz3) ($p= 0,580$) ve Bax (dBax) ($p=0,224$) aktivitesi gruplar arasında benzer bulundu.

Doku Bcl-2:

Doku Bcl-2 (dBcl-2) ($p=0,031$) aktivitesi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlıdır.

dBcl-2 farklılıklar= I/R-eS ($p=0,024$), I/R-iN ($p=0,002$), eS-iN+I/R ($p= 0,035$), iN+I/R-iN ($p= 0,004$), eS+iN+I/R-iN ($p= 0,016$), eS+I/R-iN ($p= 0,021$), sham-iN ($p= 0,047$).

Epidural sufentanil, iv nalokson ve sham grubunun antiapoptotik özelliği diğer gruplara göre daha yüksek bulundu. Bu üç grup arasında en yüksek antiapoptotik özellik naloksonda gözlenirken en düşük sham grubunda idi.

Doku Bax/Bcl-2:

Doku Bax/Bcl-2 (dBax/Bcl-2) ($p=0,001$) aktivitesi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlıdır.

dBax/Bcl-2 farklılıklar= I/R-iN ($p=0,000$), sham-I/R ($p= 0,017$).

dBax/Bcl-2 sham ve iv nalokson grubunda I/R grubuna göre daha düşük bulundu. Bu da bize naloksonun antiapoptotik olduğunu göstermektedir.

Serum CK-MB:

Serum CK-MB (sCK-MB) ($p=0,046$) aktivitesi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlıdır.

sCK-MB farklılıklar= sham-eS+I/R ($p=0,012$), sham-eS+iN+I/R ($p= 0,007$), I/R-sham ($p=0,005$), iN+I/R-sham ($p=0,003$).

sCK-MB; sham grubunda diğer gruplara göre düşük iken I/R grubunda en yüksekti. Epidural sufentanil ve iv nalokson verilmesi CK-MB de farklılığa neden olmadı (Tablo 4.5).

Tablo 4.5.Doku ve serumda TAS, TOS, OSI, MDA, IL1 β ve TNF α değerlerinin, dokuda kaspaz3, Bax, Bcl-2 ve Bax/Bcl-2 değerlerinin ve serumda CK-MB verilerinin karşılaştırılması (Ort \pm SD).

	Sham (n=5)	I/R (n=6)	eS+I/R (n=6)	eS (n=6)	eS+iN+I/R (n=6)	eS+eN+I/R (n=6)	iN+I/R (n=6)	iN (n=6)	p
dTAS	0,3 \pm 0,2	0,2 \pm 0,1	0,5 \pm 0,2	0,7 \pm 0,1	0,6 \pm 0,2	0,3 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	0,8 \pm ,24	0,000*
sTAS	3,0 \pm 2,3	2,7 \pm 1,1	3,2 \pm 2,3	3,7 \pm 0,7	2,1 \pm 0,9	2,6 \pm 1,1	3,3 \pm 2,1	5,4 \pm 1,7	0,038*
dTOS	1,8 \pm 1,1	6,0 \pm 5,0	1,9 \pm 0,9	1,7 \pm 0,2	2,7 \pm 1,7	3,0 \pm 1,3	2,1 \pm 1,2	1,7 \pm 0,9	0,276
sTOS	7,3 \pm 5,5	14,3 \pm 6,1	8,5 \pm 4,4	10,1 \pm 5,6	9,1 \pm 3,2	11,1 \pm 2,9	9,3 \pm 5,8	6,4 \pm 3,9	0,149
dOSI	4,6 \pm 1,2	21,1 \pm 9,2	3,2 \pm 1,5	2,3 \pm 0,1	4,2 \pm 1,2	8,7 \pm 1,5	7,3 \pm 3,5	1,9 \pm 0,5	0,000*
sOSI	2,5 \pm 1,4	5,1 \pm 0,8	3,2 \pm 1,5	2,5 \pm 1,0	4,4 \pm 1,4	4,5 \pm 1,1	2,8 \pm 0,7	1,0 \pm 0,3	0,000*
dMDA	1,7 \pm 0,2	2,1 \pm 0,0	1,7 \pm 0,1	1,5 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1	1,9 \pm 0,2	1,8 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1	0,000*
sMDA	2,9 \pm 0,3	4,0 \pm 0,1	3,6 \pm 0,4	3,3 \pm 0,2	3,6 \pm 0,1	3,4 \pm 0,5	3,4 \pm 0,2	3,2 \pm 0,4	0,000*
dIL1β	3,5 \pm 1,0	4,7 \pm 1,0	5,7 \pm 2,6	4,2 \pm 1,0	5,0 \pm 3,4	4,1 \pm 0,3	4,4 \pm 0,8	3,8 \pm 0,3	0,319
sIL1β	30,5 \pm 3,1	31,5 \pm 11,7	28,2 \pm 1,4	26,2 \pm 5,9	28,0 \pm 1,3	29,7 \pm 0,8	28,2 \pm 1,8	29,3 \pm 2,3	0,097
dTNFα	12,6 \pm 5,7	17,2 \pm 10,2	17,6 \pm 5,0	13,3 \pm 4,5	12,4 \pm 3,0	13,9 \pm 3,8	12,4 \pm 3,9	13,2 \pm 6,2	0,718
sTNFα	9,6 \pm 1,1	42,6 \pm 24,8	20,5 \pm 9,3	9,3 \pm 4,2	26,5 \pm 11,8	28,5 \pm 10,0	17,3 \pm 2,0	11,2 \pm 7,6	0,000*
dKaspaz3	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,580
dBax	0,1 \pm 0,0	0,2 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,224
dBcl-2	0,9 \pm 0,4	0,7 \pm 0,2	0,8 \pm 0,2	1,1 \pm 0,3	0,8 \pm 0,1	1,0 \pm 0,3	0,7 \pm 0,2	1,3 \pm 0,3	0,031*
dBax/Bcl-2	0,1 \pm 0,0	0,3 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,2 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,001*
sCK-MB	0,7 \pm 0,3	1,9 \pm 1,0	1,7 \pm 0,9	1,2 \pm 0,7	1,8 \pm 0,8	1,3 \pm 0,6	1,7 \pm 0,5	1,4 \pm 1,0	0,046*

* p < 0,05 gruplar arası anlamlı fark.

İmmünohistokimyasal değerlendirmeler

Kaspaz3 (p=0,000), bax (p=0,000), bcl-2 (p=0,000) ve TUNEL (p=0,000) histolojik olarak incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulundu.

Kaspaz 3 aktivitesi;

Kaspaz3 farklılıklar= sham-I/R (p=0,001), eS-I/R (p=0,000), iN-I/R (p=0,000)

Kaspaz 3 aktivitesi I/R grubunda sham, epidural sufentanil ve iv naloksona göre daha yüksekti. İskemi altında ilaç verilen gruplarda apoptotik aktivite belirgin artış olmadı.

Bax aktivitesi;

Bax farklılıklar= sham-I/R (p=0,002), eS-I/R (p=0,001), iN-I/R (p=0,001)

Bax aktivitesi I/R grubunda sham, epidural sufentanil ve iv naloksona göre daha yüksekti. İskemi altında ilaç verilen gruplarda apoptotik aktivite belirgin artış olmadı.

TUNEL aktivitesi;

TUNEL farklılıklar= sham-I/R (p=0,001), eS-I/R (p=0,001), iN-I/R (p=0,000), iN-iN+I/R (p= 0,011), iN-eS+eN+I/R (p= 0,007), sham-eS+eN+I/R (p= 0,043), eS-eS+eN+I/R (p=0,047).

TUNEL aktivitesi I/R grubunda sham, epidural sufentanil ve iv naloksona göre daha yüksekti. İv nalokson iskemide uygulandığında apoptozis artarken, epidural sufentanil iskemide uygulandığında apoptozisde belirgin artış olmadı.

Bcl-2 aktivitesi;

Bcl-2 farklılıklar= Sham-I/R (p=0,000), iN-I/R (p=0,002), I/R-eS (p= 0,008), sham-eS+I/R (p= 0,015), sham-eS+eN+I/R (p= 0,047). Antiapoptotik aktivite sham, epidural sufentanil ve iv nalokson grubunda I/R'e göre anlamlı yüksekti. Epidural sufentanil ve iv naloksonun antiapoptotik özelliği I/R altında da devam etti (Tablo 4.6).

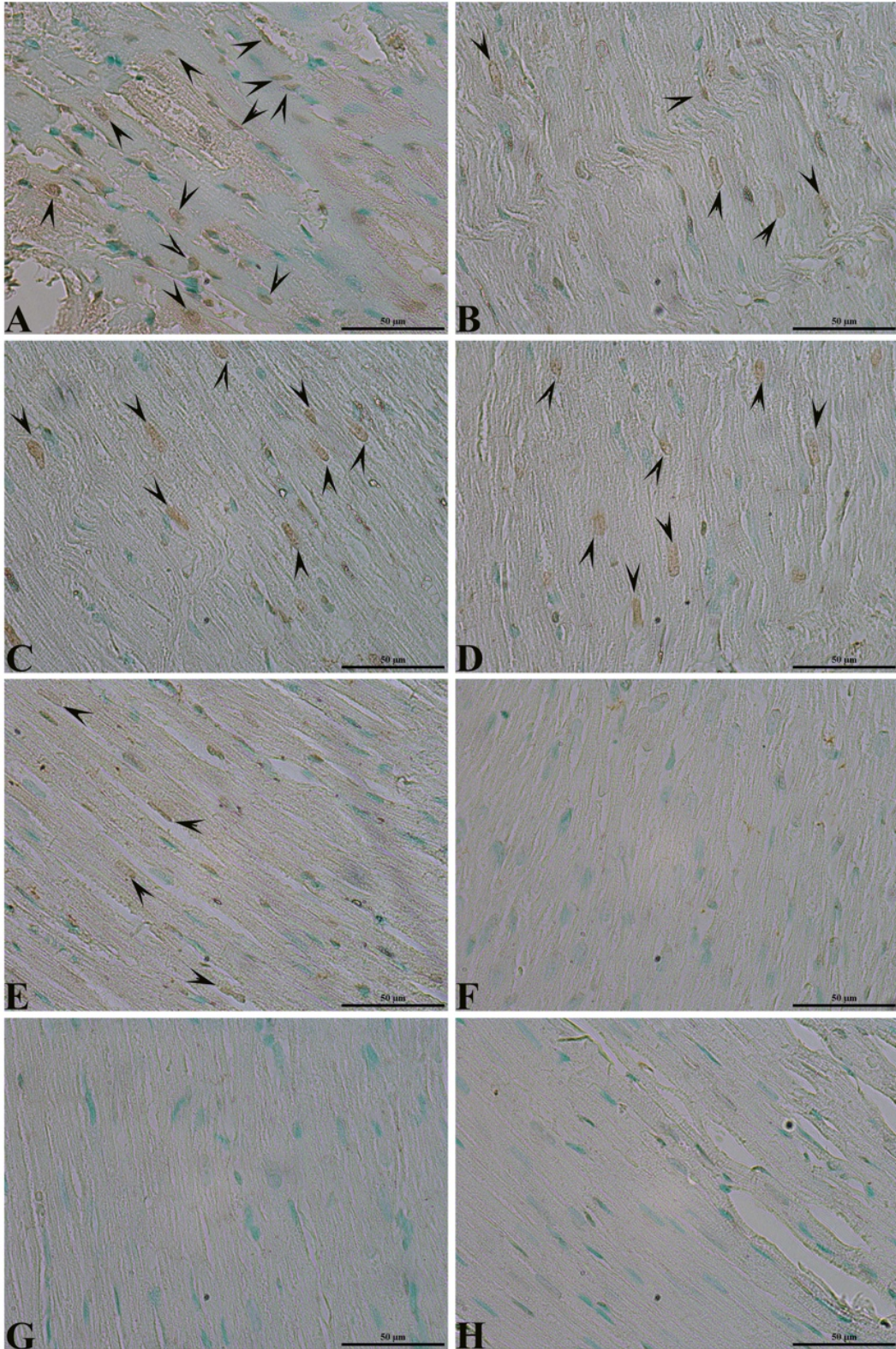
TUNEL pozitif hücreler çekirdekte boyanmaya göre değerlendirildi (Resim 4.1)

Bax, kaspaz3 ve bcl-2 immünohistokimya değerlendirmeleri ise kas hücresinin uzunluğu boyunca sarkoplazmada gözlemlendi (Resim 4.2, Resim 4.3 ve Resim 4.4).

Tablo4.6. Kaspaz3, Bax, Bcl-2 ve TUNEL verilerinin karşılaştırılması (Ort±SD).

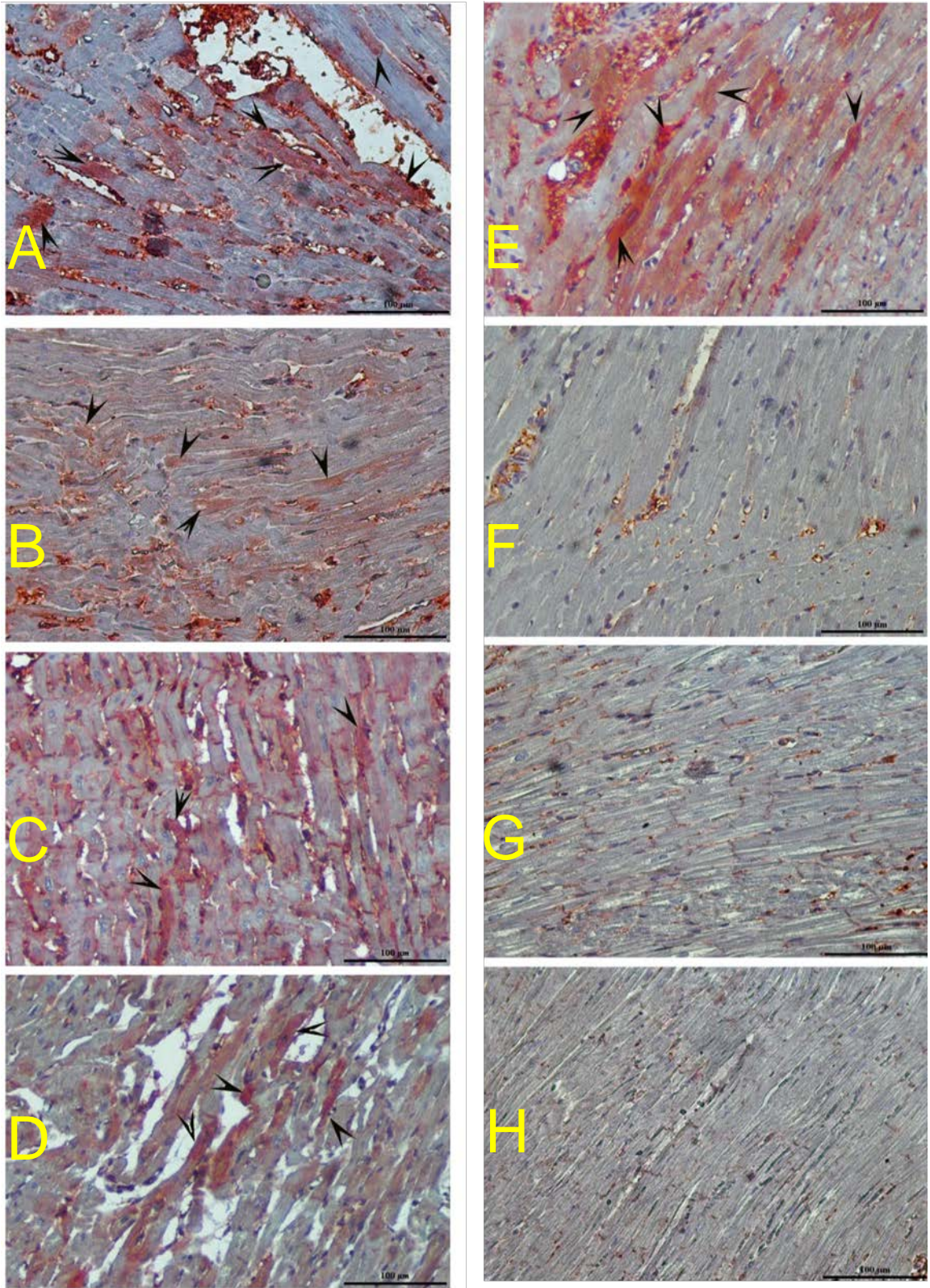
	Kaspaz3	Bax	Bcl-2	TUNEL
Sham (n=5)	0,0±0,0	0,0±0,0	3,0±0,0	4,0±1,5
I/R (n=6)	3,0±0,0	2,8±0,4	0,5±0,5	38,1±5,2
eS+I/R (n=6)	0,8±0,7	0,5±0,5	1,1±0,4	16,6±3,1
eS (n=6)	0,0±0,0	0,0±0,0	2,5±0,5	4,5±1,6
eS+iN+I/R (n=6)	0,6±0,8	1,0±1,0	1,5±0,5	14,8±2,6
eS+eN+I/R(n=6)	1,5±0,8	0,8±0,7	1,3±0,5	25,0±3,7
iN+I/R (n=6)	1,3±0,8	1,5±0,8	2,1±0,4	24,6±5,1
iN (n=6)	0,0±0,0	0,0±0,0	2,6±0,5	3,0±1,7
P	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*

*p<0,05 gruplar arası anlamlı fark

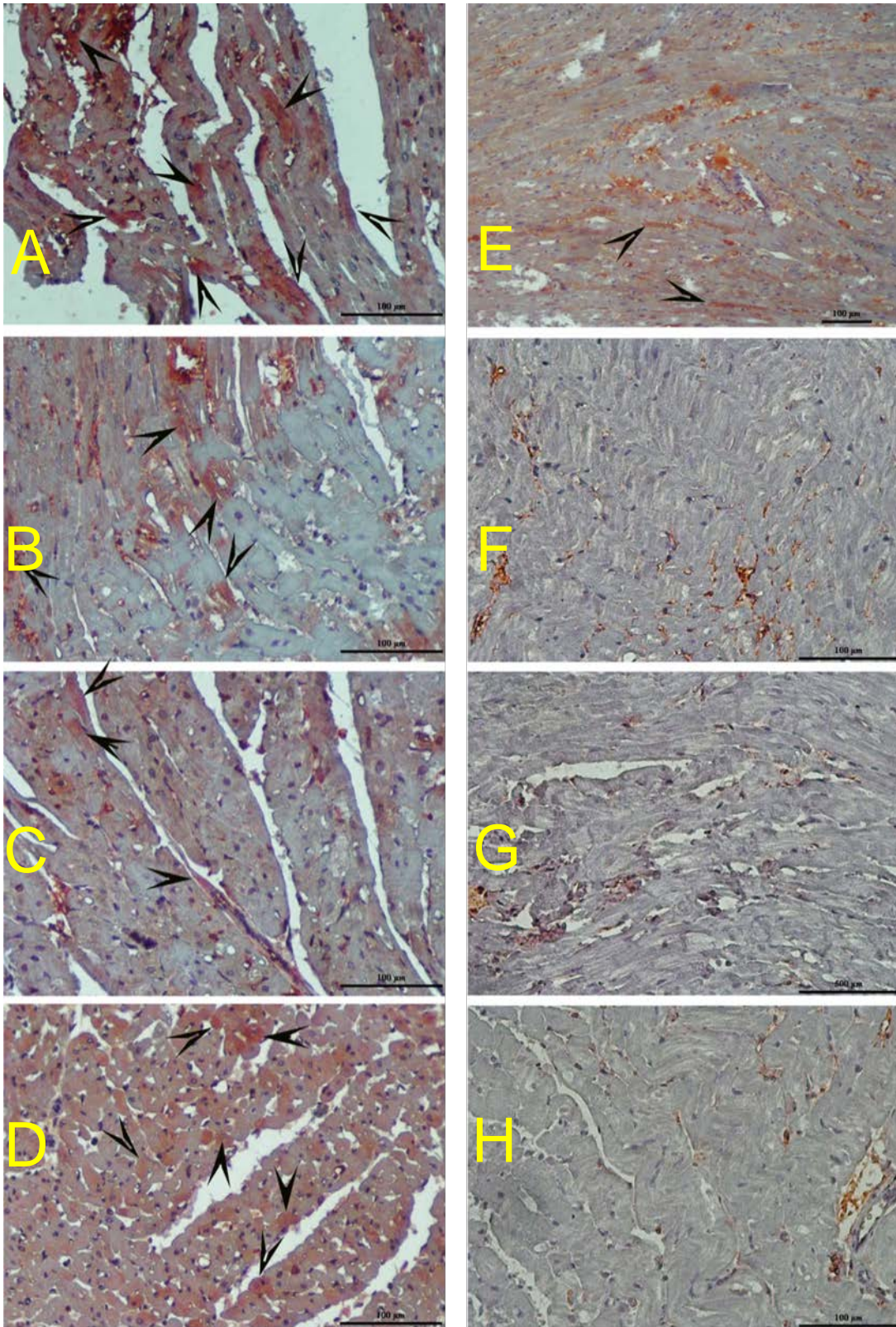


Resim 4.1. TUNEL

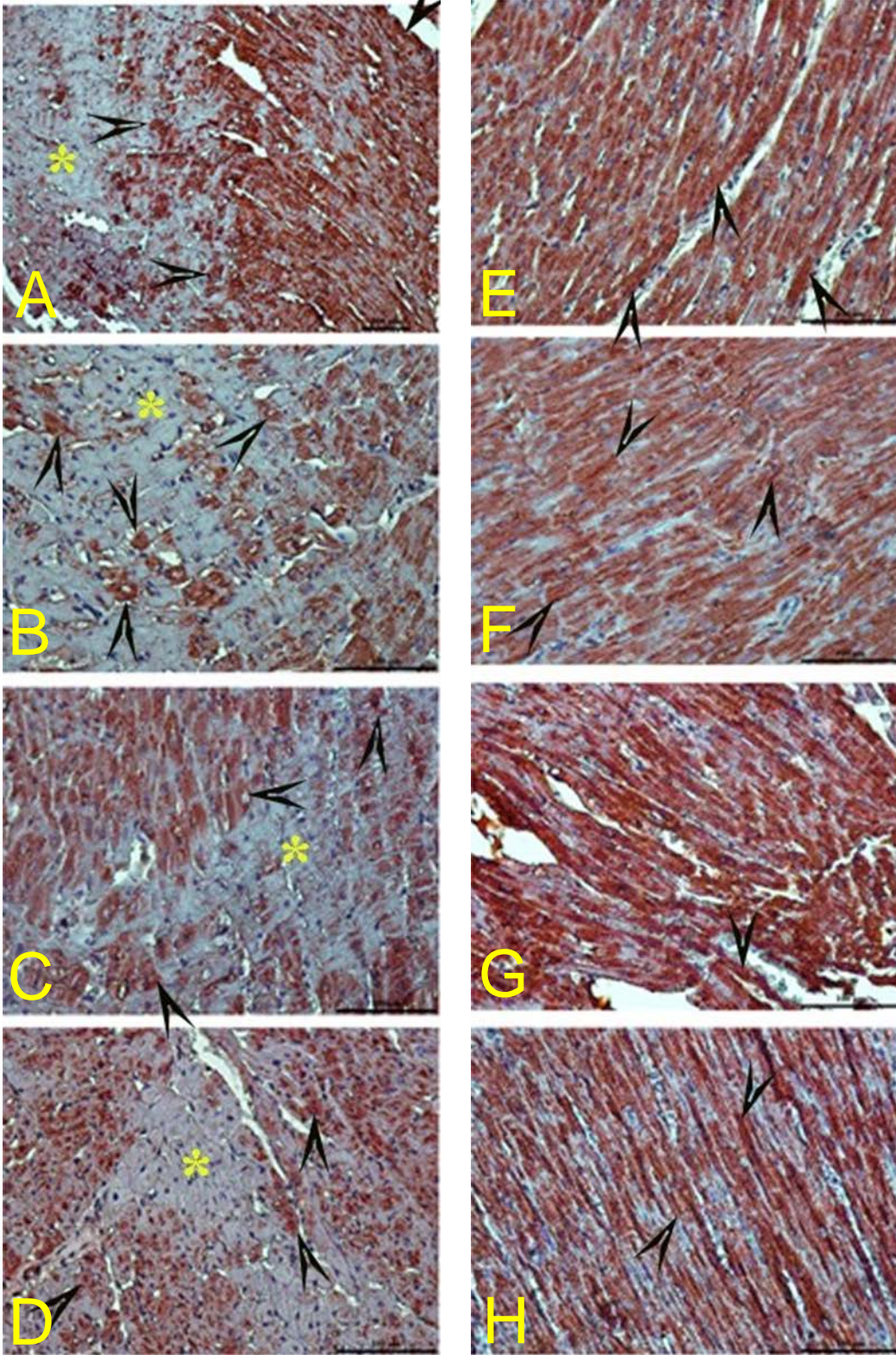
(A: I/R, B: eS+ I/R, C: iN+ I/R, D: eS+ eN+ I/R, E: eS+ iN+ I/R, F: eS sham, G: iN sham, H: Cerrahi sham.)



Resim 4.2. Bax (A: I/R, B: eS+ I/R, C: iN+ I/R, D: eS+ eN+ I/R, E: eS+ iN+ I/R, F: eS sham, G: iN sham, H: Cerrahi sham.)



Resim 4.3. Kaspaz 3 (A: I/R, B: eS+ I/R, C: iN+ I/R, D: eS+ eN+ I/R, E: eS+ iN+ I/R, F: eS sham, G: iN sham, H: Cerrahi sham.)



Resim 4.4. Bcl-2 (Ok uçları pozitif boyanmayı, sarı yıldız negatif boyanmayı göstermektedir.)

(A: I/R, B: eS+ I/R, C: iN+ I/R, D: eS+ eN+ I/R, E: eS+ iN+ I/R, F: eS sham, G: iN sham, H: Cerrahi sham.)

5. TARTIŞMA

Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon; aritmi, kontraktıl disfonksiyon, infarktüs/hücre ölümü, remodeling/hipertrofiye neden olur. Bu yüzden I/R ile birlikte olan miyokardiyal hasarı sınırlamak için kardiyoprotektif tedaviler önemli klinik uygulamalardır. Kardiyak hücreler opioid peptidlerin başlıca sentez, saklama ve salınım yerleridir. Başlıca kappa ve delta opioid reseptörleri erişkin miyokardiyumunda bulunurlar. Stres altında opioid reseptörleri aktive olur. Opioid reseptörlerinin birbiriyle ve diğer reseptörlerle karşılıklı etkileşimi, endojen opioid peptidler, reseptör bağımsız etkiler ve iskemik koşullama mekanizmalarında rol almaları opioidlerin aracılık ettiği tanımlanmış belli başlı koruma yollarıdır. Bunun yanı sıra, opioid ajanlarla ortaya çıkan farmakolojik koruma; önkoşullama, ardkoşullama, santral aracılı opioidlerjik koşullama ve opioid reseptörleri aracılığıyla uzamış kardiyak koruma şeklinde olabilir (Headrick JP, 2015). Bütün bu özellikler göz önüne alındığında opioidlerle ilgili kardiyak koruma mekanizmaları oldukça karışıktır.

Çalışmamızda selektif μ OR agonist sufentanilin epidural ve nonselektif OR antagonisti naloksonun epidural ve intravenöz uygulanması ile oksidan/antioksidan kapasite, lipid peroksidasyonu, inflamatuvar yollar ve apoptozis/antiapoptozis üzerinden miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine opioid reseptörlerinin rolü araştırıldı.

ROS, miyokardiyal iskemi-reperfüzyon sırasında/sonrasında ve kardiyopulmoner bypass sırasında kardiyak ve vasküler hücrelerde ve nötrofillerde oluşur. Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarının patogeneğinde yer alır. Miyokardiyal stunning, nekroz ve apoptozis ve olası disritmilerin oluşumuna katkıda bulunur. Bazı intravenöz anestezipler propofolde olduğu gibi serbest radikal temizleyici özelliğe sahiptir. Fakat miyokardiyal iskemi-reperfüzyon riski altındaki hastalar için bu özelliğın avantaj sağlayıp sağlamadığı konusu şüphelidir. Ayrıca paradoksik olarak volatil anestetiklerle gösterilen ROS üretimi kardiyoprotektiftir. Bu yüzden serbest radikallerin artık sadece zararlı ürün olmadığı anestezi önkoşullamaya aracılık edebileceği düşünülmektedir. Serbest radikaller birbirleriyle ve endojen antioksidan sistemlerle etkileşir. Hepsinin dengede olması, faydalı etkilerine karşılık zararlı etkilerini dengeleyen bir unsurdur (Kevin LG, 2005).

He H ve ark'nın (2016) çalışmasında morfinin reperfüzyonda Src tirozin kinaz yoluyla mitokondriyal protein karbonilasyonunu ve mitokondriyal süperoksit üretimini önleyerek kardiyak koruyucu etkiyi indüklediği gösterilmiştir.

Nalokson opioid reseptör bağımsız süperoksit inhibisyonu yapabilir. NADP oksidaz, naloksonun antiinflamatuvar etkisine aracılık eden non-opioid yeni bağlanma yeridir. Böylece mikrogliya overaktivasyonu ve süperoksit üretimi üzerine inhibitör etki gösterir (Wang Q, 2012)

Bununla birlikte; düşük konsantrasyonda oksijen radikallerine maruz kalınması infarkt boyutu ve sol ventrikülün postiskemik iyileşmesinde faydalı etkiye sahiptir (Simpson PJ, 1987).

Çalışmamızda oksidatif yanıt, total oksidan/antioksidan kapasite ve oksidatif stres indeksi ile değerlendirildi. Antioksidan kapasite iskemi sırasında azaldı. Serum ve doku oksidan durum iskemi sırasında artmakla birlikte gruplar arasında değişmedi. Epidural sufentanil ve intravenöz naloksonun antioksidan kapasitesi yüksek idi. Ancak iskemi sırasında epidural sufentanilin antioksidan kapasitesinde belirgin değişiklik olmazken naloksonun antioksidan kapasitesi azalmaktadır.

Serum ve doku oksidatif stres indeksi (oksidan/antioksidan durum) yani oksidatif stresin derecesi sufentanil ve nalokson grubunda iskemi uygulanan gruba göre düşük bulundu. İskemi ile birlikte sufentanilin oksidatif stres indeksi değişmeden kaldı. Ancak intravenöz naloksonda arttı. Bununla birlikte epidural sufentanil beraberinde epidural nalokson ile anlamlı olmakla birlikte intravenöz nalokson varlığında da indeks arttı. Dokuda iskemi sırasında naloksonun oksidatif indeksi artmakta ve epidural sufentanilin oksidatif indeksi azaltıcı etkisi epidural nalokson uygulaması ile antagonize oluyor gibi gözükmektedir.

Serum örneklerinde de epidural sufentanil ve intravenöz naloksonun oksidatif stres indeksi, iskemi grubuna göre belirgin olarak düşük ölçüldü. Bu durum doku örnekleri ile de uyumlu idi. Doku örneklerinin aksine iskemi sırasında intravenöz nalokson ile indeksteki azalma anlamlı değildi. Bununla birlikte epidural nalokson+epidural sufentanil ve epidural sufentanil+intravenöz nalokson ile görülen oksidatif stres indeks artışı anlamlı idi. Doku ve serum arasındaki farklılıklar bu ilaçların farklı uygulama yollarına ya da diğer antioksidan/oksidan sistemler arasında etkileşimin doku ve seruma farklı yansımasının bir sonucu olabilir. İskemi sırasında oksidatif stres indeks epidural sufentanil uygulaması ile azalmakta ve intravenöz nalokson ile artmaktadır. Epidural sufentanilin bu özelliği epidural ve intravenöz nalokson uygulaması ile antagonize oluyor gibi gözükmektedir.

Oksidan bileşikler lipitleri hedef aldığı anda, lipid peroksidasyonu işlemini başlatır. Bu, MDA ve 4-HNE (4-hydroxynonenal) gibi moleküllerin oluşumuna yol açan bir zincir reaksiyonudur. MDA ve 4-HNE birçok hücresel işlemde kritik rol oynarlar ve bunun sonucunda sekonder zararlı reaksiyonları presipite edebilirler. Bununla birlikte bu moleküller dual davranışa sahip gibi gözükmektedir. Selüler seviyelerine ve aktive ettikleri yollara bağlı olarak; hücresel yanıt, yaşamı iyileştirmek veya hücre ölümünü desteklemek yönünde olabilir (Ayala A, 2014).

Çalışmamızda doku ve serum MDA ile değerlendirilen lipit peroksidasyonu iskemiyle arttı. MDA artışı dokuda epidural sufentanil ve intravenöz nalokson verilen gruplarda, I/R uygulanan gruba göre daha düşük bulundu. Sufentanil ve nalokson iskemik şartlarda

uygulandığında MDA bir miktar artmakla birlikte tüm iskemi uygulanan gruplarla ve kontrol grubu ile de benzerdi. MDA artışı, intravenöz/epidural nalokson varlığında bir miktar fazla olmakla birlikte net nötralize edici etkisi gösterilememiştir. Bununla birlikte serumda, dokudakine benzer değişiklikler gözlemlendi. İskemik miyokardiyal dokuda intravenöz nalokson ve epidural sufentanilin bir miktar lipid peroksidasyonunu önleyici etkisi olabilir.

Mü, delta1, delta2 ve kappa1 opioid reseptör agonistleri, hem proflaktik uygulama ile hem de reperfüzyondan hemen önce akut tedavi ile infarkt-azaltıcı etkiler gösterirler. Böylece iskemi-reperfüzyona karşı kardiyak toleransı artırır. Kardiyak toleransı artırmada opioid benzeri reseptör-1'in katılımına dair bilgi yoktur. Opioidler iskeminin indüklediği aritmileri de önlerler (Maslov LN, 2016).

Morfinin aksine yüksek lipofilik özelliğe sahip opioid analjezik sufentanilin dağılımı ve eliminasyon yarı ömrü kısadır ve fentanile göre daha potent analjeziktir. Selektif olarak mü reseptörleri üzerine agonistik etki gösterir. Epidural sufentanilin etkisi morfinden hızlı başlar ve daha iyi analjezi sağlar (Monk JP, 1988).

Sufentanil önkoşullama ile apoptotik indeks ve CK-MB seviyeleri azalmakta iken (Wang XH, 2015) sufentanil sonraki koşullama PI3K/Akt-GSK-3 β yolağını aktive ederek, Bax ve Bcl-2 ekspresyonunun modülasyonu (Wu QL, J Surg Res 2012) ve fosforile connexin 43'in muhafazası yoluyla kardiyak korumada önemli rol oynadığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Wu Y, 2012). Ayrıca sufentanil tedavisi diyabetik ratlarda iskemi-reperfüzyon hasarını önlemede etkili değilken, glikojen sentaz kinaz-3 β direkt inhibisyonu ile diyabetik kalplerde iskemi-reperfüzyona karşı koruma sağlayabilir (Chen QL, 2013).

Bununla birlikte morfinle ilgili pek çok çalışma olmasına rağmen, sufentanilin santral uygulama yolu ile kardiyoprotektif etkisinin olup olmadığı araştırılmamıştır.

Hem santral hem de periferik adenosin reseptörleri intratekal morfin önkoşullama sinyalizasyonunda yer alır. Santral reseptörler sürecin başlamasında önemli iken, periferik reseptörler protektif etkinin devam etmesine role sahiptirler. (Yao L, 2011)

Intratekal morfin önkoşullama delta, kapa ve mü opioid reseptörleri aracılığıyla (Li R, 2009) ve santral opioid reseptörlerinin aktivasyonu ile kardiyoprotektif etkiler gösterir (Wong GT, 2010).

Kardiyak korumada santral opioid reseptör aktivasyonundan başka spinal opioid reseptörleri iskemi reperfüzyon sırasında nonopioid nörotransmitterleri kullanan bir nöronal yolu stimüle eder (Wong GT, 2012).

Ayrıca opioidlerin santral uygulamalarında, spinal nitrik oksit sentaz sinyal aktivasyonu intratekal morfin ile oluşan miyokardiyal koruma için gereklidir (Jiang L, 2016)

Okuba ve ark tarafından yapılan; hem iskemik ön koşullama hem de morfin ile delta opioid reseptör rolünün araştırıldığı deneysel çalışmada her iki uygulama ile infarkt büyüklüğü azalmış. Hem nonselektif (nalokson) hem de selektif delta reseptör (naltrindole)

antagonisitleri iskemik önkoşullamanın ve naltrindole morfinin infarkt sınırlayıcı etkilerini antagonize etmişlerdir. İskemik ön koşullama öncesi naltrindole tedavisi ile antiapoptotik etkileri geriye çevirilmiştir. Nalokson iskemik ön koşullamanın antiapoptotik etkilerini bloke etmede yetersiz bulunmuştur. Her iki antagonistin tek başlarına kullanımı ile infarkt size ve apoptozis üzerine etkileri gösterilememiştir. (Okuba S, 2004)

Paradoksal olarak opioid reseptör antagonistleri de kardiyoprotektif etkileye sahiptir. Nonselektif antagonist olan naloksonun, miyokardiyal iskemi-reperfüzyonun kardiyak etkilerini bloke ettiği (Zhan ZY, 1985) ve stereospesifik antiaritmik etkileri de olduğu gösterilmiştir. (Lee AY, 1992).

Xia A ve ark'nın yaptığı çalışmada nalokson ile sonradan koşullama, c-Jun N-terminal kinaz aktivitesini inhibe ederek ve apoptozisi azaltarak miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarını hafiflettiği de gösterilmiştir (Xia A, 2014). Ayrıca nalokson bir miktar GABA antagonist etkiye sahiptir (Dingledinei R, 1978). GABA reseptör aktivitesinin kaybı ön koşullama gelişimine katkıda bulunabilir (Zhang HY, 2002).

Apoptozis genetik olarak programlanmış hücre ölüm formudur. Bcl-2 ve Bax proteinleri, Bcl-2 multigen ailesinin iki ana üyesidir. Bcl-2 apoptozisi inhibe ederken, Bax proapoptotik etki gösterir. Miyokardiyal Bcl-2 anti-apoptotik gen ekspresyonunun artması ve Bax'ın azalması miyokardiyal I/R hasarını azaltabilir (Ma N, 2016)

Çalışmamızda Bax sadece iskemi grubunda yüksek olmakla birlikte gruplar arasında fark görülmedi. Bcl-2 iskemi grubu ile nalokson ve sufentanil grubu arasında farklı idi. Bcl-2 aktivitesi en yüksek intravenöz nalokson grubunda gözlenirken, iskemi sırasında bu özelliği ortadan kalktı. Epidural sufentanilin bu özelliği iskemi, epidural ve intravenöz nalokson varlığında değişmedi. Bcl-2 iskemi sırasında intravenöz nalokson grubunda anlamlı olarak azaldı. Aynı şekilde Bax/Bcl-2 oranı iskemi grubunda en yüksek, nalokson grubunda ez az bulundu. İskemi sırasında intravenöz naloksonun bu özelliği azaldı. Diğer gruplarda değişmeden kaldı.

Nalokson antiapoptotik özelliğe sahip gibi görünmekte ancak bu etkisi iskemi sırasında azalmaktadır. Aynı şekilde sufentanilde antiapoptotik özelliğe sahiptir ancak iskemi sırasında ve antagonist varlığında bu özelliği korunmaktadır.

Kaspazlar, hücre ölümü ve inflamasyona aracılık eden intraselüler sistein proteazlarıdır. Kaspaz-3 hem apoptotik ve hem de nekrotik hücre ölümünde majör bir mediyatördür. Kaspaz-1 ve 3'de artış kalp, beyin, böbrek gibi çeşitli organların iskemik hasarında tanımlanmıştır. Kaspaz inhibitörleri iskemik hasara karşı koruyucudur. (Faubel S, 2005)

Çalışmamızda doku kaspaz-3 ölçümleri tüm gruplar arasında benzer bulundu. Seviyesinde artış görülmedi.

Bu apoptotik ve antiapoptotik markerların immunohistokimyasal olarak sağlaması yapıldığında; bcl-2 ile değerlendirilen antiapoptotik aktivite sham, epidural sufentanil ve intravenöz nalokson grubunda iskemi grubuna göre yüksek iken, bax apoptotik marker; sham, epidural sufentanil ve intravenöz nalokson grubunda iskemi grubuna göre düşüktü.

TUNEL ile değerlendirilen DNA fragmantasyonu iskemi grubunda en yüksekti. Bununla birlikte iskemi sırasında naloksonun bu özelliği azalırken, epidural sufentanil ile korunmaktadır. Ancak epidural sufentanile+epidural nalokson ile bu özellik antagonize olmuştur.

Bax ve kaspaz3 ile değerlendirilen apoptotik aktivite sham, epidural sufentanil ve intravenöz nalokson da iskemiye göre yüksekti. İskemi ile birlikte artış oldu. Ancak bu gruplar arasında istatistiksel olarak yansımada.

Sitokinlerin, hem advers hem de kardiyoprotektif etkileri bir arada bulunmasına rağmen zararlı etkileri kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde önemli kritik rol oynayabilir.

TNF α aynı isimli reseptörleri ile NO, sfingozin, mitogen-activated protein kinase, protein kinase c, nuclear factor kapa B (ikincil mesajcı) yollarını kullanarak apoptosis, negatif inotropik etki, diğer sitokinlerin sentezi ve inflamatuvar etkilere yol açar. IL-1, IL-1 β reseptörleri üzerinden NO, mitogen-activated protein kinase ve nuclear factor kapa B yolları aracılığıyla, apoptozis, negatif inotropik etki, Ca⁺² regüled gen ekspresyonunda azalma, aritmojenik etkide artışa yol açar. (Saini HK, 2005)

Çalışmamızda proinflamatuvar IL1 β dokuda en yüksek iskemi uygulanan sufentanil grubunda ölçülmekle birlikte doku ve serum düzeyleri gruplar arasında benzer bulundu. Düşük doz IL-1 α ile önkoşullama miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarında terapötik bir ajan olarak kullanılabilir (Maulik N, 1993). IL-1 miyokardiyal reperfüzyon hasarını azaltabilir (Brown JM, 1990; Nogae C, 1995; Maulik N, 1993)

TNF α sağlıklı kalplerde küçük konsantrasyonlarda başlıca vasküler endotelde lokalizedir. İskemi sırasında miyokardiyal TNF α konsantrasyonu artar ve kontraktıl disfonksiyon gelişimine katkıda bulunur. TNF α antikörlerinin uygulanması koroner mikroembolizasyonu takiben ortaya çıkan kontraktıl disfonksiyonu hafifletir. Bununla birlikte miyokardiyal disfonksiyon ile birlikte olan tüm antiteler miyokardiyal TNF α konsantrasyonunda artışa yol açmaz. Bu bağlamda TNF α antikörleri sol ventrikül fonksiyonlarının yanı sıra hastanın kalp yetmezliği prognozunu da iyileştirmez. Ne var ki iskemi nedeniyle TNF α konsantrasyondaki artış irreversibl doku hasarına katkıda bulunur. TNF α antikörleri koroner arter iskemi-reperfüzyonunu takiben infarkt size azaltır (Schulz R, 2004)

TNF α 'nın yüksek konsantrasyonları büyük olasılıkla tümör nekrozing faktör 1 aktivasyonu ile miyokardiyal disfonksiyon, infarkt, hipertrofi, fibrozis ve apoptozisi

tetikleyebilir Bununla birlikte tersine TNF α 'nın düşük konsantrasyonları iskemik ön koşullamaya katkıda bulunabilir. (Kleinbongard P, 2010)

Morfin ile önkoşullamanın, miyokardiumda TNF- α salınımında azalma ile birlikte miyokardiyum üzerine gecikmiş koruyucu etkiyi indüklediği Ran ve ark'nın yaptığı deneysel tavşan modelinde gösterilmiştir (Ran K, 2015).

Çalışmamızda, dTNF α gruplar arasında benzer bulurken, sTNF α düzeyi tüm iskemi uygulanan gruplarda artış gösterdi. Ancak iskemi+epidural sufentanil ve iskemi+intravenöz nalokson uygulanan gruplarda artış en azdı. İskemi sırasında epidural sufentanil ve intravenöz nalokson sTNF α artışını sınırlayabilir. Ancak serumda epidural nalokson ve intravenöz nalokson uygulaması ile sufentanilin bu özelliği bir miktar antagonize oluyor gibi gözükmemektedir.

Reperfüzyondan sonra infarkt boyutunu tahmin için 3, 6, ve 12. saatlerde pik CK-MB ve troponin T ölçümleri yapılabilir (Hedström E, 2007).

Kardiyopulmoner bypas eşliğinde mitral kapak replasmanı yapılan hastalarda, sufentanil ile yapılan sonraki koşullamada, CK-MB ve troponin I ile değerlendirilen iskemi reperfüzyon hasarı azalmıştır (Zuo Y, 2014).

Naloksonun iskemi ve reperfüzyon uygulanan rat modelde doz bağımlı CK düzeyini azalttığı miyokardiyal iskemiye karşı protektif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Özellikle yüksek dozda nalokson (3.6 mmol/L) ile CK salınımını anlamlı ölçüde düşürmektedir (Lee AY, 1985).

Çalışmamızda sham grubunda CK-MB diğer gruplara göre düşüktü. İskemi uygulanan gruplarda artış görüldü. Sham grubu ile I/R ve I/R+intravenöz nalokson arasında farklı bulundu. Epidural sufentanilin iskemi koşullarda ve nalokson ile birlikte verilmesi ile CK-MB düzeyleri benzer bulundu.

Epidural sufentanilin analjezik potansi intratekal ve intravenöz dozları karşılaştırılabilir özelliktedir (product monogram).

Çalışmamızda tavşanlarda belirtilen doz aralığından (0.01-0.1 mg/kg) (<http://www.thepetsite.co.uk/vetknowledge/health/diseases/rabbitdrugs.htm>) nispeten düşük dozda nalokson (0.04 mg) kullanıldı. Lee ve ark çalışmasında yüksek dozlarda daha belirgin olan CK-MB düzeyinde azalma, iskemi sırasında epidural sufentanil uygulaması ile görülmedi. Ancak naloksonun sufentanil ile birlikte epidural verilmesi CK-MB düzeyinde belirgin artış olmadı. İntravenöz ve epidural nalokson daha yüksek dozlarda kullanılırsa CK-MB seviyesine etkisi daha belirgin olabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- 1) Epidural sufentanil ve iv nalokson antioksidan özelliğe sahiptir. İskemi sırasında sufentanilin bu özelliği korunurken, nalokson varlığında antagonize olmakta biraz azalmaktadır. İv naloksonun antioksidan kapasitesi iskemi sırasında azalmaktadır.
- 2) Oksidatif stres indeksi sufentanil ve naloksonda iskemiye göre düşüktü. Ancak iskemi varlığında oksidatif stres indeksi naloksonda azalırken sufentanil ile değişmedi. Epidural nalokson ile anlamlı şekilde azalırken iv nalokson ile de artış gözlemlendi.
- 3) Epidural sufentanil ve naloksonun lipid peroksidasyonu üzerine belirgin etkileri olmadı.
- 4) Bax/bcl-2 ile değerlendirilen apoptotik indeks sufentanil ve naloksonda düşüktü. Sufentanilin bu antiapoptotik etkisi iskemi sırasında korunurken nalokson ile azaldı. Sufentanilin bu etkisi epidural ve intravenöz nalokson ile antagonize olmadı.

7. KAYNAKLAR

- Acworth IN, Bailey B. Reactive Oxygen Species. In: The handbook of oxidative metabolism. Massachusetts: ESA Inc., 1997, p. 1-1 to 4-4
- Adam F, Gairard AC, Chauvin M, Le Bars D, Guirimand F. Effects of sufentanil and NMDA antagonists on a C-fibre reflex in the rat. *Br J Pharmacol* 2001 Aug;133(7):1013-22.
- Aka SA, Sargin M. Miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarı. *J Cardiovascular Surgery*, 2004 5(3):202-6.
- Ambros JT, Herrero-Fresneda I, Borau OG, Boira JM. Ischemic preconditioning in solid organ transplantation: from experimental to clinics. *Transpl Int*, 2007 Mar;20(3):219-29.
- Andrews DT, Royse AG, Royse CF. Functional comparison of anaesthetic agents during myocardial ischaemia–reperfusion using pressure–volume loops. *Br J Anaesth*. 2009 Nov;103(5):654-64.
- Aral H, Türkmen S. Oksidatif stres ve hastalıklarla ilişkisi. *Folia* 2002;4:1-5.
- Assunção Guimarães C, Linden R. Programmed cell deaths. Apoptosis and alternative deathstyles. *Eur J Biochem* 2004 May;271(9):1638-50.
- Ayala A, Munoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanism of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev* 2014;2014:360438
- Aykaç Z. Kalbin korunmasında anestezinin rolü. *GKD Anestezi Yoğun Bakım Derneği Derg.* 2007, 13(1): 8-14.
- Bailey PL, Streisand JB, East KA, East TD, Isern S, Hansen TW et al. Differences in magnitude and duration of opioid induced respiratory depression and analgesia with fentanyl and sufentanil. *Anesth Analg* 1990 Jan;70(1):8-15.
- Barlas S, Tireli E, Dayioğlu E, Barlas C. Miyokard Korunması- II: Miyokard Metabolizması ve Harabiyeti. *GKD Cer. Derg.* 1994; 2:313-7.
- Beattie WS, Badner NH, Choi P. Epidural analgesia reduces postoperative myocardial infarction: a meta-analysis. *Anesth Analg* 2001 Oct;93(4):853-8.
- Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Feb;87(4):1620-4.
- Bolli R, Leeser MA, Stoddard M. Ischemic preconditioning during coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol*. 1997 Feb;29(2):469-70.
- Bolli R. The early and late phases of preconditioning against myocardial stunning and the essential role of oxyradicals in the late phase: an overview. *Basic Res Cardiol*. 1996 Jan-Feb;91(1):57-63.
- Bolli, R. Myocardial "stunning" in man. *Circulation*, 1992 Dec;86(6):1671-91.
- Bovill JG, Sebel PS, Fiolet JW, Touber JL, Kok K, Philbin DM. The influence of sufentanil on endocrine and metabolic responses to cardiac surgery. *Anesth Analg* 1983 Apr;62(4):391-7.
- Brown JM, White CW, Terada LS, Grosso MA, Shanley PF, Mulvin DW et al. Interleukin 1 pretreatment decrease ischemia/reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87(13):5026-30.
- Chauvin M, Ferrier C, Haberer JP, Spielvogel C, Lebrault C, Levrone JC et al. Sufentanil pharmacokinetics in patients with cirrhosis. *Anesth Analg* 1989 Jan;68(1):1-4.
- Chen QL, Gu EW, Zhang L, Cao YY, Zhu Y, Fang WP. Diabetes mellitus abrogates the cardioprotection of sufentanil against ischemia/reperfusion injury by altering glycogen synthase kinase-3 β . *Acta Anaesthesiol Scand* 2013;57:236-42.
- Cheung MM, Kharbanda RK, Konstantinov IE, Shimizu M, Frndova H, Li J et al. Randomized controlled trial of the effects of remote ischemic preconditioning on children undergoing

- cardiac surgery. First clinical application in humans. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Jun 6;47(11):2277-82. Epub 2006 May 15.
- Cohen MV, Yang XM, Liu GS, Heusch G, Downey JM. Acetylcholine, bradykinin, opioids, and phenylephrine, but not adenosine, trigger preconditioning by generating free radicals and opening mitochondrial K(ATP) channels. *Circ Res*. 2001 Aug 3;89(3):273-8.
- Cuce G, Kalkan SS, Esen HH. Evaluation of TGF beta1 expression and comparison the thickness of different aorta layers in experimental diabetes. *Bratisl Lek Listy*, 2011;112(6):318-22.
- Davies SJ, Reichardt-Pascal SY, Vaughan D, Russel GI. Differential effect of ischemia-reperfusion injury on antioxidant enzyme activity in the rat kidney. *Exp Nephrol*. 1995 Nov-Dec;3(6):348-54.
- De Hert SG, Preckel B, Hollmann MW, Schlack WS. Drugs mediating myocardial protection. *Eur J Anaesthesiol*. 2009 Dec;26(12):985-95.
- de Leon-Casasola OA, Parker BM, Lema MJ, Groth RI, Orsini-Fuentes J. Epidural analgesia versus intravenous patient-controlled analgesia. Differences in the postoperative course of cancer patients. *Reg Anesth* 1994 Sep-Oct;19(5):307-15.
- Deutsch E, Berger M, Kussmaul WG, Hirshfeld JW Jr, Herrmann HC, Laskey WK. Adaptation to ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty. Clinical, hemodynamic, and metabolic features. *Circulation*. 1990 Dec;82(6):2044-51.
- DiNardo JA, Zvara DA. Anesthesia for Cardiac Surgery. DiNardo JA, Zvara DA, editors. *Myocardial Preservation during Cardiopulmonary Bypass*. 3 rd. USA; 2008 p. 409-424.
- Dingledine R, Iversen LL, Breuker E. Naloxone as a GABA antagonist: evidence from iontophoretic, receptor binding and convulsant studies. *Eur J Pharmacol*. 1978 Jan 1;47(1):19-27.
- Erdine S. Akut ağrı. In: Erdine S, ed. *Ağrı*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2000. p. 135-6.
- Erdine S. Epidural Analjezi/ Anestezi. In: Erdine S, editors. *Rejyonel Anestezi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. p. 135-157.
- Erdine S. Opioid analjezikler. In: Erdine S, editors. *Ağrı*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2007. p. 581-604.
- Erdine S. Santral sinir blokları. In: Erdine S, editors. *Rejyonel Anestezi*. İstanbul: Nobel matbacılık; 2005; 135-49.
- Erkin Y, Aydın Z, Taşdöğen A, Karcı A. A new technique for long time catheterization of sacral epidural canal in rabbits. *Braz J Anesthesiol*. 2013 Sep-Oct;63(5):385-8.
- Faubel S, Edelstein CL. Caspases as drug targets in ischemic organ injury. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord* 2005;5:269-87.
- Feng J, Lucchinetti E, Ahuja P, Pasch T, Perriard JC, Zaugg M. Isoflurane preconditioning prevents opening of the mitochondrial permeability transition pore through inhibition of glycogen synthase kinase 3beta. *Anesthesiology*, 2005 Nov;103(5):987-95.
- Ferrante FM, VadeBoncouer TR. Epidural analgesia with combinations of local anesthetics and opioids. In: Ferrante FM and Vade- Bonjour TR editors. *Postoperative Pain Management*. New York: Churchill Livingstone Inc.; 1983. p. 305.
- Frässdorf J, Huhn R, Niersmann C, Weber NC, Schlack W, Preckel B et al. Morphine induces preconditioning via activation of mitochondrial K(Ca) channels. *Can J Anaesth*, 2010 Aug;57(8):767-73.
- Freye E, Levy JV. A comprehensive review on the mode of action and the use of analgesics in different clinical pain states. Opioids, an integrative part in perioperative medicine. In: Freye E, ed. *Opioid in medicine*. The Netherlands: Springer, 2008. p. 236-8.
- Freye, E, Levy, JV. A comprehensive review on the mode of action and the use of analgesics in different clinical pain states. Mechanism of action of opioids and clinical effects. In: Freye E, ed. *Opioid in medicine*. The Netherlands: Springer. 2008. p. 172-8.

- Giricz Z, Lalu MM, Csonka C, Bencsik P, Schulz R, Ferdinandy P. Hyperlipidemia attenuates the infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning: role of matrix metalloproteinase-2 inhibition. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006 Jan;316(1):154-61. Epub 2005 Sep 15.
- Görbe A, Varga ZV, Kupai K, Bencsik P, Kocsis GF, Csont T et al. Cholesterol diet leads to attenuation of ischemic preconditioning-induced cardiac protection: the role of connexin 43. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011 May;300(5):H1907-13.
- Grace PA, Mathie RT. Ischemia-reperfusion Injury. London, Blackwell Science. 1999:123–136
- Gutstein HB, Akil H. Opioid analgesics. In: Hardman JG, Limbird LE, editors. *Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics*, New York: McGraw-Hill; 2001. p. 569-619.
- Güldoğuş F, Gürkan Y. Rejyonel Anestezi. Nobel tıp kitapçevleri: 2013.
- Hamada S, Nakamura S, Sugiura T, Murakami T, Fujimoto T, Watanabe J et al. Early detection of the no-reflow phenomenon in reperfused acute myocardial infarction using technetium-99m tetrofosmin imaging. *Eur J Nucl Med*, 1999 Mar;26(3):208-14.
- Hawaleshka A, Jacobsohn E. Ischaemic preconditioning: Mechanisms and potential clinical applications. *Can J Anaesth*. 1998 Jul;45(7):670-82.
- He H, Huh J, Wang H, Kang Y, Lou J, Xu Z. Mitochondrial events responsible for morphine's cardioprotection against ischemia/reperfusion injury. *Toxicol Appl Pharmacol* 2016;290:66-73
- Headrick JP, See Hoe LE, Du Toit EF, Peart JN. Opioid receptors and cardioprotection-'opioidergic conditioning' of the heart. *Br J Pharmacol* 2015;172(8):2026-50.
- Hedström E, Aström-Olsson K, Ohlin H, Frogner F, Carlsson M, Billgren T et al. Peak CKMB and cTnT accurately estimates myocardial infarct size after reperfusion. *Scand Cardiovasc J*. 2007 Jan;41(1):44-50.
- Hess ML, Krause S, Kontos HA. Mediation of sarcoplasmic reticulum disruption in the ischemic myocardium: proposed mechanism by the interaction of hydrogen ions and oxygen free radicals. *Adv Exp Med Biol*. 1983;161:377-89.
- Heusch G, Boengler K, Schulz R. Inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening: the holy grail of cardioprotection. *Basic Res Cardiol*, 2010 Mar;105(2):151-4.
- [http:// www. thepetsite. co.uk/ vetknowledge/health/diseases/rabbitdrugs.htm](http://www.thepetsite.co.uk/vetknowledge/health/diseases/rabbitdrugs.htm)
- Inuo K, Niwano S, Morohoshi Y, Nakayama S, Ikeda K, Kojima J et al. Cardioprotective effect of mexiletine in acute Myocardial Ischemia Studies in the Rabbit Closed Chest Ischemia Model. *Circ J*. 2002 Apr;66(4):403-10.
- Ishihara M, Inoue I, Kawagoe T, Shimatani Y, Kurisu S, Nishioka K et al. Diabetes mellitus prevents ischemic preconditioning in patients with a first acute anterior wall myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2001 Oct;38(4):1007-11.
- İşlekel H, İşlekel S, Güner G. Biochemical Mechanism and Tissue Injury of Cerebral Ischemia and Reperfusion Part II: Tissue Injury Journal of Neurological Sciences (Turkish), Norol Bil D, 2000 .
- Janoff A. Alterations in lysosomes (intracellular enzymes) during shock; effects of preconditioning (tolerance) and protective drugs. *Int Anesthesiol Clin*. 1964 Feb;2:251-69.
- Jiang L, Hu J, He S, Zhang L, Zhang Y. Spinal neuronal NOS signaling contributes to morphine cardioprotection in ischemia reperfusion injury in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2016;358(3):450-6.
- Kaneda K, Kashii S, Kurosawa T, Kaneko S, Akaike A, Honda Y et al. Apoptotic DNA fragmentation and upregulation of Bax induced by transient ischemia of the rat retina. *Brain Research* 1999 Jan 2;815(1):11-20.
- Kato R, Foëx P. Fentanyl reduces infarction but not stunning via delta-opioid receptors and protein kinase C in rats. *Br J Anaesth* 2000 May;84(5):608-14.
- Kato R, Foëx P. Myocardial protection by anesthetic agents against ischemia-reperfusion injury: an update for anesthesiologists. *Can J Anaesth*. 2002 Oct;49(8):777-91.

- Katz, AM, Reuter H. Cellular calcium and cardiac cell death. *Am J Cardiol.* 1979 Jul; 44(1), 188-90.
- Kawaguchi M, Takahashi M, Hata T, Kashima Y, Usui F, Morimoto H, et al. Inflammasome activation of cardiac fibroblasts is essential for myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circulation.* 2011 Feb 15;123(6):594-604.
- Kayhan Z. Santral bloklar spinal ve epidural anestezi. In: Kayhan Z. *Klinik Anestezi.* İstanbul: Logos yayıncılık:2004. p. 552-90.
- Kevin LG, Novalija E, Stowe DF. Reactive oxygen species as mediators of cardiac injury and protection: the relevance to anesthesia practice. *Anesth analg.* 2005 Nov;101(5):1275-87.
- Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, Kristiansen SB, Schmidt MR, Hoschitzky JA et al. Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation.* 2002 Dec 3;106(23):2881-3.
- Kilgore KS, Lucchesi BR. Reperfusion injury after myocardial infarction: The role of free radicals and the inflammatory response. *Clin Biochem.* 1993 Oct;26(5):359-70.
- Kim JS, Jin Y, Lemasters JJ. Reactive oxygen species, but not Ca^{+2} overloading, trigger pH- and mitochondrial permeability transition-dependent death of adult rat myocytes after ischemia reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006 May;290(5):H2024-34. Epub 2006 Jan 6.
- Kleinbongard P, Heusch G, Schulz R. TNF α in atherosclerosis, myocardial ischemia/reperfusion and heart failure. *Pharmacology Therapeutics* 2010;127:295-314.
- Kleinbongard P, Schulz, R, Heusch, G. TNF alpha in myocardial ischemia/reperfusion, remodeling and heart failure. *Heart Fail Rev.* 2011 Jan;16(1):49-69.
- Kloner RA, Jennings RB. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning and their clinical implications: part 2. *Circulation* 2001 Dec 18;104(25):3158-67.
- Kock M, Blomberg S, Emanuelsson H, Lomsky M, Strömblad SO, Ricksten SE. Thoracic epidural anesthesia improves global and regional left ventricular function during stress-induced myocardial ischemia in patients with coronary artery disease. *Anesth Analg* 1990 Dec;71(6):625-30.
- Kohro S, Hogan QH, Nakae Y, Yamakage M, Bosnjak ZJ. Anesthetic effects on mitochondrial ATP-sensitive K channel. *Anesthesiology.* 2001 Dec;95(6):1435-340.
- Kuzume Ko, Kuzume Ka, Wolff RA, Chien GL, Van Winkle DM. Remifentanyl limits infarct size but attenuates preconditioning-induced infarct limitation. *Coron Artery Dis* 2004 Nov;15(7):449-55.
- Lango R, Mrozinski P. Clinical importance of anaesthetic preconditioning. *Anestezjol Intens Ter.* 2010 Oct-Dec;42(4):206-12.
- Lee AY, Wong TM. Naloxone reduces release of creatine kinase in the isolated ischemic rat heart. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1985 Jun;179(2):219-21.
- Lee AY. Stereospecific antiarrhythmic effects of naloxone against myocardial ischaemia and reperfusion in the dog. *Br J Pharmacol.* 1992 Dec;107(4):1057-60.
- Lee Y, Chung C, Oh YS. The effectiveness of propofol pretreatment on the extent of deranged cerebral mitochondrial oxidative enzyme system after incomplete forebrain ischemia/reperfusion in rats. *Journal Korean Med Sci,* 2000 Dec;15(6):627-30.
- Li R, Wong GT, Wong TM, Zhang Y, Xia Z, Irwin MG. Intrathecal morphine preconditioning induces cardioprotection via activation of delta, kappa, and mu opioid receptors in rats. *Anesth Analg* 2009;108:23-9.
- Lorsomradee S, Cromheecke S, Lorsomradee S, De Hert SG. Cardioprotection with volatile anesthetics in cardiac surgery. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2008 Jun;16(3):256-64.
- Ma N, Bai J, Zhang W, Luo H, Zhang X, Liu D et al. Trimetazidine protects against cardiac ischemia/reperfusion injury via effects on cardiac miRNA-21 expression, Akt and the Bcl-2/Bax pathway. *Mol Med Rep* 2016;14(5):4216-4222.

- Marx W, Shah N, Long C, Arbit E, Galicich J, Mascott C et al. Sufentanil, alfentanil and fentanyl: Impact on cerebrospinal fluid pressure in patients with brain tumors. *J Neurosurg Anesthesiol* 1989 Mar;1(1):3-7.
- Maslov LN, Khaliulin I, Oeltgen PR, Naryzhnaya NV, Pei JM, Brown SA et al. Prospects for creation of cardioprotective and antiarrhythmic drugs based on opioid receptor agonists. *Med Res Rev* 2016;36(5):871-923.
- Maulik N, Engelman RM, Wei Z, Lu D, Rousou JA, Das DK. Interleukin-1 alpha preconditioning reduces myocardial ischemia reperfusion injury. *Circulation* 1993;88(5):11387-94.
- Mayer N, Weinstabl C, Podreka I, Spiss CK. Sufentanil does not increase cerebral blood flow in healthy human volunteers. *Anesthesiology* 1990 Aug;73(2):240-3.
- Meisel SR, Shapiro H, Radnay J, Neuman Y, Khaskia AR, Gruener N et al. Increased expression of neutrophil and monocyte adhesion molecules LFA-1 and Mac-1 and their ligand ICAM-1 and VLA-4 throughout the acute phase of myocardial infarction. Possible implications for leukocyte aggregation and microvascular plugging. *J Am Coll Cardiol*, 1998 Jan;31(1):120-5.
- Millau JF, Mai S, Bastien N, Drouin R. p53 functions and cell lines: have we learned the lessons from the past? *Bioessays* 2010 May;32(5):392-400.
- Miller RD. *Miller Anestezi. (Çeviren: Karaca S). İzmir: Güven Kitabevi; 2010*
- Monk JP, Beresford R, Ward A. Sufentanil. A review of its pharmacological properties and therapeutic use. *Drugs* 1988;36:286-313.
- Morgan GE, Michail MS, Murray MJ. *Lange (Klinik Anesteziyoloji). (Çevirenler: Tulunay M, Cuhruk H) Güneş Tıp Kitabevleri. 2008. p. 192-7.*
- Mousavia SH, Tavakkol-Afshari J, Brook A, Jafari-Anarkooli I. Role of caspases and bax protein in saffron-induced apoptosis in MCF-7 Cells. *Food and Chemical Toxicology*, 2009 Aug;47(8):1909-13.
- Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986 Nov;74(5):1124-36.
- Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell* 1997 Feb 7;88(3):355-65.
- Nehls O, Okech T, Hsieh CJ, Enzinger T, Sarbia M, Borchard F, et al. Studies on p53, BAX and Bcl-2 protein expression and microsatellite instability in stage III (UICC) colon cancer treated by adjuvant chemotherapy: major prognostic impact of proapoptotic BAX. *British Journal of Cancer* 2007 May 7;96(9):1409-18. Epub 2007 Apr 10.
- Obal D, Preckel B, Scharbatke H, Müllenheim J, Höterkes F, Thämer V et al. One MAC of sevoflurane provides protection against reperfusion injury in the rat heart in vivo. *Br J Anaesth* 2001 Dec;87(6):905-11.
- Okuba S, Tanabe Y, Takeda K, Kitayama M, Kanemitsu S, Kukreja RC et al. Ischemic preconditioning and morphine attenuate myocardial apoptosis and infarction after ischemia reperfusion in rabbits: role of delta-opioid receptor. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;287(4):H1786-91.
- Pan ZZ, Tershner SA, Fields HL. Cellular mechanism for anti-analgesic action of agonist of the kappa-opioid receptor. *Nature* 1997 Sep 25;389(6649):382-5.
- Piana RN, Paik GY, Moscucci M, Cohen DJ, Gibson CM, Kugelmass AD et al. Incidence and treatment of 'no-reflow' after percutaneous coronary intervention. *Circulation*. 1994 Jun;89(6):2514-8.
- Pöpping DM, Elia N, Van Aken HK, Marret E, Schug SA, Kranke P et al. Impact of Epidural Analgesia on Mortality and Morbidity After Surgery: Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Ann Surg* 2014 Jun;259(6):1056-67.
- Preckel B, Bolten J. Pharmacology of modern volatile anaesthetics. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2005 Sep;19(3):331-48.

- Ragosta M1, Camarano G, Kaul S, Powers ER, Sarembock IJ, Gimple LW et al. Microvascular integrity indicates myocellular viability in patients with recent myocardial infarction. New insights using myocardial contrast echocardiography. *Circulation*, 1994 Jun;89(6):2562-9.
- Rahman IA, Mascaro JG, Steeds RP, Frenneaux MP, Nightgale P, Gospling P et al. Remote ischemic preconditioning in human coronary artery bypass surgery: from promise to disappointment. *Circulation*. 2010 Sep 14;122(11 Suppl):S53-9.
- Ran K, Gong ZX, Yang DL, Chang YT, Duan KM, Ou YW. Effect of morphine preconditioning in the delayed phase on the expression of p38 mitogen-activated protein kinase in a rabbit model of myocardial ischemia-reperfusion injury. *Genet Mol Res* 2015;14(2):6642-8.
- Reiter RJ, Acuña-Castroviejo D, Tan DX, Burkhardt S. Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci*. 2001 Jun;939:200-15.
- Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain. *Faseb J*. 1995 Apr;9(7):526-33.
- Rezkalla SH, Kloner RA. Ischemic preconditioning and preinfarction angina in the clinical arena. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2004 Dec;1(2):96-102.
- Rice-Evans CA. Formation of free radicals and mechanisms of action in normal biochemical processes and pathological states. In: Rice-Evans CA, Burdon RH, editors. Free radical damage and its control. England, Elsevier Science Press, 1994.p. 131-153.
- Richard V, Kaeffer N, Tron C, Thuillez C. Ischemic preconditioning protects against coronary endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion. *Circulation*. 1994 Mar;89(3):1254-61.
- Saini HK, Xu YJ, Zhang M, Liu PP, Kirshenbaum LA, Dhalla NS. Role of tumour necrosis factor- α and other cytokines in ischemia-reperfusion-induced injury in the heart. *Exp Clin Cardiol* 2005;10(4):213-22.
- Sawada M, Nakashima S, Banno Y, Yamakawa H, Hayashi K, Takenaka K et al. Ordering of ceramide formation, caspase activation, and Bax/Bcl-2 expression during etoposide-induced apoptosis in C6 glioma cells. *Cell Death Differentiation* 2000 Sep;7(9):761-72.
- Schultz JE, Hsu AK, Gross GJ. Morphine mimics the cardioprotective effect of ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in the rat. *Circ Res* 1996 Jun;78(6):1100-4.
- Schulz R, Aker S, Belosjorow S, Heusch G. TNF α in ischemia/reperfusion injury and heart failure. *Basic Res Cardiol* 2004;99:8-11
- Schwartz AE, Matteo RS, Ornstein E, Young WL, Myers KJ. Pharmacokinetics of sufentanil in obese patients. *Anesth Analg* 1991 Dec;73(6):790-3.
- Simpson PJ, Lucchesi BR. Free radicals and myocardial ischemia and reperfusion injury. *J Lab Clin Med* 1987;110(1):13-30.
- Smith NT, Benthuisen JL, Bickford RG, Sanford TJ, Blasco T et al. Seizures during opioid anesthetic induction: Are they opioid-induced rigidity? *Anesthesiology* 1989 Dec;71(6):852-62.
- Smul TM, Lange M, Redel A, Burkhard N, Roewer N, Kehl F. Desflurane-induced preconditioning against myocardial infarction is mediated by nitric oxide. *Anesthesiology*. 2006 Oct;105(4):719-25.
- Spear JF, Prabu SK, Galati D, Raza H, Anandatheerthavarada HK, Avadhani NG. β 1-Adrenoreceptor activation contributes to ischemia-reperfusion damage as well as playing a role in ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007 May;292(5):H2459-66. Epub 2007 Jan 19.
- Stefano GB. Autoimmunovascular regulation: morphine and anandamide and anandamide stimulated nitric oxide release. *J Neuroimmunol* 1998 Mar 15;83(1-2):70-6.
- Şahna E, Deniz E, Aksulu HE. Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarı ve melatonin. *Anadolu Kardiyol Derg*. 2006; 6, 163-8.

- Tapuria N, Kumar Y, Habib MM, Abu Amara M, Seifalian AM, Davidson BR et al. Remote ischemic preconditioning: a novel protective method from ischemia reperfusion injury-a review. *J Surg Res*. 2008 Dec;150(2):304-30.
- Tüzüner F. Erişkin kalp cerrahisinde anestezi. In: Tüzüner F, editors. *Anestezi-Yoğun Bakım-Ağrı*. İstanbul: MN Medikal ve Nobel Tıp Kitapevi; 2010. p. 859.
- Vade Boncouer TR, Ferrante FM. Epidural and subarachnoid opioids. In: Vade Boncouer TR, ed. *Postoperatif pain management*. New York: Churchill Livingstone, 1993. p. 279-303.
- Wang Q, Zhou H, Gao H, Chen SH, Chu CH, Wilson B et al. Naloxone inhibits immune cell function by supressing superoxide production through a direct interaction with gp91phox subunit of NADPH oxidase. *J Neuroinflammation* 2012;16:32
- Wang XH, Zeng JF, Lin C, Chen SB. Effects of morphine and sufentanil preconditioning aganist myocardial ischemic-reperfusion injury in rabbits. *Int J Clin Exp Med* 2015;15:15692-9.
- Wang Y, Zhang ZZ, Wu Y, Ke JJ, He XH, Wang YL. Quercetin postconditioning attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in rats through the PI3K/Akt pathway. *Braz J Med Biol Res*, 2013 Oct;46(10):861-7.
- White BC, Grossman LI, Krause GS. Brain injury by global ischemia and reperfusion: a theroretical perspective on membrane damage and repair. *Neurology*. 1993 Sep;43(9):1656-65.
- Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr*. 1990;137:1-53.
- Wong GT, Ling Ling J, Irwin MG. Activation of central opioid receptors induces cardioprotection aganist ischemia-reperfusion injury. *Anesth Analg* 2010;111:24-8.
- Wong GT, Yao L, Xia Z, Irwin MG. Intrathecal morphine remotely preconditions the heart via a neural pathway. *J Cardiovasc Pharmacol* 2012;60:172-8.
- World Health Organization (2014). *The top 10 causes of death* (Fact sheet No 310).
- Wu QL, Shen T, Ma H, Wang JK. Sufentanil postconditioning protects the myocardium from ischemia-reperfusion via PI3K/Akt-GSK-3 β pathway. *J Surg Res* 2012;178:563-70.
- Wu Y, Gu EW, Zhu Y, Zhang L, Liu XQ, Fang WP. Sufentanil limits the myocardial infarct size by preservation of the phosphorylated connexin 43. *Int Immunopharmacol* 2012;13:341-6.
- Xia A, Xue Z, Wang W, Zhang T, Wei T, Sha X et al. Naloxone Postconditioning Alleviates Rat Myocardial Ischemia Reperfusion Injury by Inhibiting JNK Activity. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2014 Feb;18(1):67-72.
- Xiao, CY, Hara, A, Yuhki, K, Fujino T, Ma H, Okada Y, et al. Roles of prostaglandin I² and thromboxane A² in cardiac ischemia-reperfusion injury: a study using mice lacking their respective receptors. *Circulation*, 2001 Oct 30;104(18):2210-5.
- Yang XM, Baxter GF, Heads RJ, Yellon DM, Downey JM, Cohen MV. Infarct limitation of the second window of protection in a conscious rabbit model. *Cardiovasc Res*. 1996 May;31(5):777-83.
- Yao L, Wong GT, Xia Z, Irwin MG. Interaction between spinal opioid and adenosine receptors in remote cardiac preconditioning: effect of intrathecal morphine. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2011;25:444-8.
- Zaugg M, Lucchinetti E, Garcia C, Pasch T, Spahn DR, Schaub MC. Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part II. Clinical implications. *Br J Anaesth*. 2003 Oct;91(4):566-76.
- Zaugg M, Lucchinetti E, Garcia C, Pasch T, Spahn DR, Schaub MC. Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part II. Clinical implications. *Br J Anaesth*. 2003 Oct;91(4):566-76.
- Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Garcia C, Schaub MC. Differential effects of anesthetics on mitochondrial K(ATP) channel activity and cardiomyocyte protection. *Anesthesiology* 2002 Jul;97(1):15-23.
- Zhan ZY, Lee AY, Wong TM. Naloxone blocks the cardiac effects of myocardial ischaemia and reperfusion in the rat isolated heart. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1985 Jul-Aug;12(4):373-8.

- Zhang HY, McPherson BC, Liu H, Baman TS, Rock P, Yao Z. H₂O₂ opens mitochondrial K(ATP) channels and inhibits GABA receptors via protein kinase C-epsilon in cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002 Apr;282(4):H1395-403.
- Zhang Y, Chen ZW, Girwin M, Wong TM. Remifentanyl mimics cardioprotective effect of ischemic preconditioning via protein kinase c activation in open chest of rats. *Acta Pharmacol Sin* 2005 May;26(5):546-50.
- Zhang Y, Irwin MG, Wong TM. Remifentanyl preconditioning protects against ischemic injury in the intact rat heart. *Anesthesiology* 2004 Oct;101(4):918-23.
- Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003 Aug;285(2):H579-88.
- Zimmerman, BJ, Granger, DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am*, 1992; 72 (1): 65-83.
- Zorov DB, Filburn CR, Klotz LO, Zweier JL, Sollott SJ. Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes. *J Exp Med*. 2000 Oct 2;192(7):1001-14.
- Zorov DB, Juhaszova M, Yaniv Y, Nuss HB, Wang S, Sollott SJ. Regulation and pharmacology of the mitochondrial permeability transition pore. *Cardiovasc Res*. 2009 Jul 15;83(2):213-25.
- Zuo Y, Cheng X, Gu E, Liu X, Zhang L, Cao Y. Effect of aortic root infusion of sufentanil on ischemia-reperfusion injury in patients undergoing mitral valve replacement. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2014;28:1474-8.