



**SIÇANLARDA KETAMİN ANESTEZİSİNE
BAĞLI KARDİYOTOKSİSİTENİN NİMESULİDLE
ÖNLENMESİ VE NİMESULİDİN KETAMİNLE
YARARLI ETKİLEŞİMİ**

Dr. Renad MAMMADOV

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Erol AKPINAR

Doktora Tezi-2015

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA KETAMİN ANESTEZİSİNE BAĞLI
KARDİYOTOKSİSİTENİN NİMESULİDLE
ÖNLENMESİ VE NİMESULİDİN KETAMİNLE
YARARLI ETKİLEŞİMİ**

Dr. Renad MAMMADOV

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Erol AKPINAR

ERZURUM
2015

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA KETAMİN ANESTEZİSİNE BAĞLI
KARDİYOTOKSİSİTENİN NİMESULİDLE
ÖNLENMESİ VE NİMESULİDİN KETAMİNLE
YARARLI ETKİLEŞİMİ**

Dr. Renad MAMMADOV

Tez Savunma Tarihi: 04.09.2015

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Erol AKPINAR (Atatürk Üniversitesi)

Jüri üyesi : Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU (Atatürk Üniversitesi)

Jüri üyesi : Prof. Dr. Fatih AKÇAY (Atatürk Üniversitesi)

Jüri üyesi : Doç. Dr. Durdu ALTUNER (Erzincan Üniversitesi)

Jüri üyesi : Yrd. Doç. Dr. Nihal ÇETİN (Erzincan Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM

Enstitü Müdürü

Doktora Tezi

ERZURUM - 2015

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XI
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Ketamin.....	3
2.1.2. Fizikokimyasal Özellikler	3
2.1.3. Ketaminin Farmakokinetik Özellikleri	3
2.1.4. Etki Mekanizmaları.....	4
2.1.5. Yan etkileri	5
2.1.6. Ketamin Suistimali	5
2.2. Nimesulid.....	7
2.2.1. Etki Mekanizması	7
2.2.2. Yapı-Aktivite ilişkisi.....	7
2.2.3. Kullanıldığı yerler.....	8
2.2.4. Yan Etkileri.....	8
2.3. Serbest Oksijen Radikalleri	9
2.3.1. Serbest Radikal Çeşitleri.....	10
2.3.1.1. Süperoksit Radikali (O_2^-).....	10
2.3.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2).....	10
2.3.1.3. Hidroksil Radikali ($\cdot OH$):.....	10

2.3.1.4. Singlet Oksijeni ($^1\text{O}_2$):	10
2.3.1.5. Nitrik Oksit (NO) ve Azot Dioksit (NO_2):.....	11
2.3.2. Serbest Radikallerin Etkileri	11
2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	12
2.4.1. Endojen (Doğal) Antioksidanlar	12
2.4.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	12
2.4.1.2. Katalaz (KAT)	13
2.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)	13
2.4.1.4. Glutasyon Reduktaz (GR-az)	13
2.4.1.5. Glutasyon S-Transferaz (GST).....	13
2.4.1.6. Glutasyon (GSH).....	13
2.4.1.7. Myeloperoksidaz (MPO)	14
2.4.2. Ekzojen Antioksidanlar.....	14
2.4.2.1. Vitamin E.....	14
2.4.2.2. Vitamin C (Askorbik asit).....	14
2.4.2.3. Karotenoid	14
2.4.2.4. Melatonin	14
3. MATERYAL VE METOT.....	16
3.1. Deney Hayvanları	16
3.2.1. Deney Grupları	16
3.2.1.1. Test I Deney Grupları	16
3.2.1.2. Test II Deney Grupları	16
3.2.1.3. Test III Deney Grupları.....	16
3.2.2. Deney Prosedürü.....	17
3.2.2.1. Test I Deney Prosedürü.....	17

3.2.2.2. Test II deney prosedürü	17
3.2.2.3. Test III Deney Prosedürü	18
3.3. Kullanılan Cihaz ve Kimyasal Maddeler	19
3.4. Biyokimyasal Analizler	20
3.4.1 Kalp Dokusunun Biyokimyasal Analizi	20
3.4.2. Numunelerin Hazırlanması	20
3.5. Biyokimyasal Parametrelerin Tayini	20
3.5.1. Malondialdehit (MDA) Tayini.....	20
3.5.2. Total Glutasyon (tGSH) Tayini.....	20
3.5.3. Serum CK-MB Tayini	20
3.5.4. Serum Troponin I Tayini	21
3.5.5. Adrenalin Tayini	21
3.6. DNA Oksidasyon Analizi	22
3.6.1. Dokunun Hazırlanması	22
3.6.2. Formik Asitle DNA Hidroliz İşlemi	23
3.6.3. 8-Hidroksiguaninin HPLC ile Analizi	23
3.7. İstatistiksel Analizler	23
4. BULGULAR.....	24
4.1. Biyokimyasal Bulgular	24
4.1.1. Test I: MDA ve tGSH Analiz Sonuçları.....	24
4.1.2. Test I: DNA Oksidasyon Analiz Sonuçları.....	25
4.1.3. Test I: CK-MB ve TP I Analiz Sonuçları	26
4.1.4. Test I: ADR Analiz Sonuçları.....	28
4.1.5. Test II: Nimesulidin, Ketaminin Anestezi Süresine Etkisi ve ADR Analiz Sonuçları.....	28

4.1.6. Test III: Nimesulidin Ketaminin Analjezik Aktivitesine Etkisi ve ADR	
Analiz Sonuçları	30
5. TARTIŞMA.....	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR	40
EKLER	58
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	58
EK-2. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ONAY FORMU	59
EK-3. TABLO 3.2. DENEYLER AŞAMASINDA KULLANILAN KİMYASAL	
MADDELER VE TEMİN EDİLDİKLERİ FİRMA İSİMLERİ	60

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Erol AKPINAR'a,

İster lisans ve doktora eğitimi boyunca, isterse de öğrencilik dışında da her konuda, her sıkıntıda kahrımı çeken ve daima yanımda olan çok değerli insan, ko-danışman Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN hocam ve ailesine, Prof. Dr. Fatma GÖÇER, Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU, Prof.Dr. Zekai HALICI, Prof.Dr. Fatih AKÇAY, Doç. Dr. Abdulmecit ALBAYRAK, Doç.Dr. Durdu ALTUNER, Yrd. Doç. Dr. Nihal ÇETİN ve ve Araştırma görevlisi Ali TAGİZADEHOĞLU'na, kendisi ile kardeşten öte olduğum Yrd. Doç. Dr. Bahadır SÜLEYMAN ve eşi Öğretim Görevlisi Zeynep SÜLEYMAN'a, Türkiye'ye gelip eğitim görmeme vesile olan dayılarım ve yıllarca her türlü sıkıntımı çeken aileme teşekkür ederim.

Dr. Renad MAMMADOV

ÖZET

Sıçanlarda Ketamin Anestezisine Bağlı Kardiyotoksisitenin Nimesulidle Önlenmesi ve Nimesulidin Ketaminle Yararlı Etkileşimi

Amaç: Nimesulidin ketamin kardiyotoksisitesine, anestezi süresine ve analjezik aktivitesine etkisini araştırmak ve adrenal düzeyi ile ilişkisini göstermektir.

Materyal ve Metot: Deneyde ağırlıkları 210-220 gram olan 84 adet albino wistar türü erkek sıçanlar kullanıldı. Kardiyotoksik etki oluşturabilmek için ketamin 60 mg/kg dozda (ip) yoldan günde bir kez 30 gün uygulandı. Nimesulid, ketamin verimeden bir saat önce 50 ve 100 mg/kg dozlarda oral yoldan verildi. Otuz gün sonunda hayvanlar dekapitasyonla öldürüldü ve kalp dokularında oksidan/antioksidan parametreler, kanda ise ADR, Kreatin Kinaz İzoenzimi (CK-MB) ve Plazma Kardiyak Troponin I (TP I) seviyeleri ölçüldü. Ayrıca, çalışmamızda nimesulidin ketaminin anestezi süresine ve analjezik aktivitesine etkisi araştırıldı. Analjezik aktivite Basile aljezimetre kullanılarak ölçüldü. Elde edilen sonuçlar, gruplar arasında karşılaştırılarak değerlendirildi. Analjezik aktivitenin değerlendirilmesi için ketamin 30 mg/kg dozda kullanıldı.

Bulgular: Ketamin grubunun kalp dokusunda MDA, 8-OH/Gua, CK-MB, TP I ve ADR miktarının sağlıklı ve nimesulid (50 ve 100 mg/kg) alan gruplara göre anlamlı arttığını, tGSH miktarının ise düştüğünü göstermiştir. Ketamin grubunda anestezi süresi 12.6 ± 0.66 dakika iken, 50 ve 100 mg/kg dozda nimesulid verilen gruplarda 19.0 ± 1.06 ve 29.0 ± 1.12 dakikaya yükselmiştir. ADR miktarı, anestezi süresi daha uzun olan nimesulid grubunda daha düşük ölçülmüştür.

Sonuç: Ketamin 30 mg/kg dozda % 68.8 analjezik aktivite göstermiştir. Nimesulid 50 ve 100 mg/kg dozlarda % 38.2 ve % 52.8 analjezi oluştururken, bu dozların ketaminle kombinasyonu % 76.2 ve % 83.4 analjezi oluşturmuştur. Bu deney sonuçları nimesulidin klinikte ketamin kardiyotoksisitesini azaltmada, güçlü analjezi sağlamada ve uzun süreli cerrahi girişimlerde yararlı olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Adrenalin, antioksidan, ketamin, nimesulid, oksidan, rat.

ABSTRACT

The Prevention of Cardiotoxicity Related to Ketamine Anesthesia with Nimesulide in Rats: A Useful Interaction between Ketamine and Nimesulide

Aim: The aim of this study was to investigate the effect of Nimesulide on anesthesia duration analgesic activity and cardiotoxicity induced by ketamine, and to search the relationship with adrenalin level.

Material and method: In this experiment, eighty-four (84) albino Wistar male rats weighing 210-220 gr were used. In order to be able to form cardiotoxicity effect, ketamine (60 mg/kg. ip) was given once a day for 30 days. Nimesulide was given orally at 50 and 100 mg/kg doses one hour before ketamine application. At the end of this period, the animals were decapitated and their cardiac tissue was removed and oxidant/antioxidant parameters (ADR, CK-MB and TP I) levels were measured in heart tissue. Additionally, the effects of nimesulide on anesthesia duration and analgesic activity of ketamine were also investigated. The analgesic activity was detected with Basile analgesimeter. The data obtained were compared and evaluated between the groups. For the measurement of analgesic activity, ketamine was used at 30 mg/kg doses.

Results: In ketamine group, cardiac tissue MDA, 8-OH/Gua, CK-MB, TP I and ADR levels were found significantly increased and tGSH levels were decreased when compared to nimesulide groups (50 and 100 mg/kg groups). While mean anesthesia duration was 12.6 ± 0.66 min in ketamine group, it increased to 19 ± 1.06 and 29.0 ± 1.12 min in nimesulid groups (50 and 100 mg/kg groups, respectively). On the other hands, ADR values were lower in the nimesulide groups than in the ketamine group.

Conclusion: Ketamine at 30 mg/kg dose showed 68.8 % analgesic activity. While nimesulide at 50 and 100 mg/kg doses showed 38.2 and 52.8% analgesic activity with the combination of ketamine the values increased to 76.2 and 83.4%, respectively.

The data this experiment revealed that nimesulide decreased ketamine-induced cardiotoxicity and increased analgesic and can be useful in long duration surgical interventions.

Keywords: Adrenaline, antioxidant, ketamine, nimesulide, oxidant, rat.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

8-OH/Gua	: 8-Hidroksiguaninin
ADR	: Adrenalin
CK-MB	: Kreatin Kinaz İzoenzimi
COX	: Siklooksijenaz
CRF	: Kortikotropin Relasing Faktör
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ET-1	: Endotelin-1
GPx	: Glutatyon Peroksidaz
GR-az	: Glutatyon reduktazın
GSH-Rd	: Glutatyon Reduktaz Enzimi
GST	: Glutatyon S-Transferaz
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
KAT	: Katalaz
KTAC-60	: 60 mg/kg ketamin alan kontrol
LPO	: Lipit peroksidasyonunu
MDA	: Malondialdehid
MIP-1α	: Makrofaj İnflamatuar Protein 1 α
MPO	: Myeloperoksidaz
N-100	: 100 mg/kg Nimesulid
N-50	: 50 mg/kg Nimesulid
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NKTA-100	: 100 mg/kg Nimesulid+60 mg/kg Ketamin
NKTA-50	: 50 mg/kg Nimesulid+60 mg/kg Ketamin

NMDA	:	N-metil-D-aspartat
NO	:	Nitrik Oksit
NO₂	:	Azot Dioksit
NSAİİ	:	Non-steroidal Antiinflamatuvar İlaç
O₂⁻	:	Süperoksit
OH⁻	:	Hidroksil
OH•	:	Hidroksil Radikali
PAF	:	Trombosit Aktive Edici Faktör
PG	:	Prostoglandin
SG	:	Sağlıklı
SOD	:	Süperoksit Dismutaz
SOR	:	Serbest Oksijen Radikalleri
tGSH	:	Total Glutasyon
TPI	:	Plazma Kardiak Troponin I
TxA₂	:	Tromboksan A ₂

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No

Sayfa No

Şekil 4.1. Sıçan kalp dokusunda N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 KTAC-60 ve SG gruplarında MDA ve tGSH düzeyleri.....	25
Şekil 4.2. N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 KTAC-60 ve SG gruplarından alınan kalp dokularında 8-OHGua düzeyleri.....	26
Şekil 4.3. N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 KTAC-60 ve SG gruplarından alınan kanlarda CK-MB düzeyleri.....	27
Şekil 4.4. N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 KTAC-60 ve SG gruplarından alınan kan örneklerinde TP I düzeyleri.....	27
Şekil 4.5. N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 KTAC-60 ve SG gruplarından alınan kan örneklerinde ADR düzeyleri	28
Şekil 4.6. Ketamin uygulanan NKTA-50, NKTA-100 ve KTAC-60 gruplarında Anestezi süreleri	29
Şekil 4.7. NKTA-50, NKTA-100 ve KTAC-60 gruplarından alınan kan örneklerinde ADR düzeyleri	30
Şekil 4.8. N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 ve KTAC-30 gruplarında ilaçlardan önce ve ilaçlardan sonraki ağrı eşiği değerleri arasındaki fark.....	32
Şekil 4.9. N-50, N-100 ve NKTA-50, NKTA-100 ve KTAC-30 gruplarından alınan kan örneklerinde ADR düzeyleri	32

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No

Sayfa No

Tablo 3.1. Deneyler aşamasında kullanılan cihazlar ve temin edildikleri firma isimleri aşağıda belirtilmiştir.	19
Tablo 4.1. Sıçan kalp dokusu ve kan örneklerinde N-50 (50 mg/kg nimesulid), N-100 (100 mg/kg nimesulid), NKTA-50 (50 mg/kg nimesulid+60 mg/kg ketamin), NKTA-100 (100 mg/kg nimesulid+60 mg/kg ketamin), KTAC-60 (60 mg/kg ketamin) ve SG (sağlıklı grup) gruplarında MDA, tGSH, 8-OHGua, CK-MB, TP I ve ADR düzeyleri.	24
Tablo 4.2. NKTA-50 (50 mg/kg nimesulid+60 mg/kg ketamin), NKTA-100 (100 mg/kg nimesulid+60 mg/kg ketamin) ve KTAC-60 (60 mg/kg ketamin) gruplarında Anestezi süresi ve ADR düzeyleri.	29
Tablo 4.3. N-50 (50 mg/kg nimesulid), N-100 (100 mg/kg nimesulid), NKTA-50 (50 mg/kg nimesulid+30 mg/kg ketamin), NKTA-100 (100 mg/kg nimesulid+30 mg/kg ketamin)ve KTAC-30 (30 mg/kg ketamin) gruplarında Ağrı eşiği değerleri, Analjezik aktivite ve ADR düzeyleri.	31

1. GİRİŞ

Ketamin, ufak dozlarda yeterince analjezi sağlayabilen fensiklidin türevi bir intravenöz anestezi maddesidir.¹ Ancak, ketamine bağlı genel anestezi yüksek dozlarda ortaya çıkmaktadır.² Genel anestezi ketaminin yüksek dozlarda kullanılması taşikardi, arteriyel kan basıncının yükselmesi gibi ciddi miyokard fonksiyonlarını olumsuz etkileyebilecek komplikasyonlara neden olmaktadır.¹⁻³ Ketamin pulmoner vasküler rezistansı artırarak da pulmoner arter basıncı ile sağ ventrikülün yükünü artırmaktadır.¹ Ketaminin kalp damar üzerindeki bu toksik etkisinin semptomimetik aktivitesinden ileri geldiği savunulmaktadır.^{4, 5} Bundan önce yapılan çalışmalarda da ketaminin endojen katekolamin (adrenalin, noradrenalin) düzeyini yükselttiği deneysel olarak gösterilmiştir.⁶ Fazla üretilen katekolaminlerin ise oksidatif kalp hasarına neden olduğu bilinmektedir.⁷ Katekolaminlerin kardiyotoksitesi, güçlü pozitif kronotrop ve inotrop etkisinden kaynaklanmaktadır. Bu etki, miyokardın oksijen tüketimini artırmaktadır.^{8, 9} Katekolaminlerin ayrıca, kalp miyokardında oksidatif strese yol açtığı bildirilmiştir.^{10, 11} Edinilen bu literatür bilgileri, ketaminin endojen katekolamin miktarını artırarak kardiyotoksik etki oluşturduğunu işaret etmektedir. Bu da, ketaminin kardiyotoksik etkisinin ketaminle artan endojen katekolamin üretiminin baskılanmasıyla ve antioksidan tedavi ile azalabileceğini göstermektedir.

Ketamin, etki süresi çok (10 dak.) kısa anestezi bir ilaçtır. Bu nedenle ketamin, ya kısa süreli cerrahi girişimlerde tercih edilmektedir, ya da uzun sürecek cerrahi girişimlerde dozu birkaç kez tekrar uygulanmaktadır. Ketaminin etki süresinin kısa olması onun klinikteki değerini düşürmektedir ve kullanımını kısıtlamaktadır. Daha ufak dozlarda ketaminle yeterince anestezi sağlamak ketaminin olumsuz etkilerini azaltabilir ve hemde uzun süreli cerrahi girişimlerde değerini artırabilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda endojen adrenalin (ADR) üretimi baskılanan sıçanlarda ketaminin

daha ufak dozlarda anestezi oluşturduğu ve anestezi sũresinin anlamlı uzadığı gũsterilmiřtir.⁶ Ancak, ketaminin analjezik etkisinin dũřũk ADR dũzeyinden etkilenip etkilenmeyeceği bilinmemektedir. Bu literatũr bilgileri, endojen ADR üretimini baskılayan maddelerin ketamin kardiyotoksisitesini azaltabileceğini, anestezi sũresini uzatabileceğini ve ketaminin ufak dozlarda bile anestezi oluşturabileceğini işaret etmektedir. Gũnũmũzde, kardiyotoksisiteyi değerlendirmek için kreatin kinaz izoenzim MB (CK-MB) ve plazma kardiyak troponin I (TPI) gibi parametreler kullanılmaktadır; bu parametrelerin kalp dokusunda oksidan/antioksidan dengenin oksidanların lehine bozulması sonucu yũkseldiėi savunulmaktadır.¹² çalışmamızda deneyeceğimiz nimesulidin endojen ADR üretimini inhibe ettiği bildirilmiştir.¹³ Nimesulidin ayrıca, iskemi reperfũzyon hasarının patogenezinde ũnemli rol oynayan oksidatif stresi baskılayarak belirgin antioksidan etki oluşturduğu rapor edilmiştir.^{14, 15} Edinilen bu bilgiler, nimesulidin ketamin kardiyotoksisitesini azaltabileceğini ve anestezi sũresini artıracadıını gũstermektedir. Fakat nimesulidle ADR üretimi baskılandığında ketaminin analjezik etkisinin azalıp azalmayacağı bilinmemektedir. Literatũr taramalarında nimesulidin ketamin kardiyotoksisitesi, anestezi sũresi ve analjezik aktivitesi ũzerindeki etkilerine ait bilgilere rastlanmadı. Bu nedenle çalışmamızın amacı, nimesulidin ketamin kardiyotoksisitesine ve anestezi sũresine etkisini araştırmak, ketaminin analjezik aktivitesinin nimesulidle etkilenip etkilenmediğini incelemek ve ADR dũzeyi ile ilişkisinin olup olmadığını gũstermektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ketamin

Ketamin, güçlü analjezik ve hafif narkotik özellikleri bulunduran, etkisi hızlı başlayan ve etki süresi kısa olan fensiklidin analogu anestetik bir ajandır.¹⁶ Ketamin, 1960'lı yılların sonlarına doğru, klinik kullanıma girmiştir.¹⁷ Günümüzde, ketaminin travmalar ve acil operasyon gerektiren durumlarda, özellikle pediatrik hastalarda ve ayrıca veteriner hekimlikte kullanılmaktadır.¹⁸

2.1.2. Fizikokimyasal Özellikler

Ketamin HCl (2-o-klorofenil-2-metilaminosikloheksanon hidroklorür), hafif kokulu, beyaz, kristalize bir tozudur. Su ve metanolde çok hızlı, alkol ve kloroformda daha yavaş çözünür.¹⁹ S(+)-ketamin ve R(-)-ketamin olmak üzere iki optik enantiyomeri vardır. Ketamin, terapötik amaçla, rasemat halinde kullanılır.¹⁷

2.1.3. Ketaminin Farmakokinetik Özellikleri

Ketamin, intramusküler yoldan uygulandığında biyoyararlanımı yaklaşık %93 oranındadır.²⁰ Ketaminin oral biyoyararlanımı % 20, sublingual ve rektal biyoyararlanımı %30, nazal biyoyararlanımı ise % 45 oranındadır.²¹ İlk geçişte biyotransformasyona uğradığından oral biyoyararlanımı düşüktür.²² Ketamin, insanlarda karaciğer sitokrom P450 enzim sistemi tarafından metabolize edilerek, norketamin ve dehidronorketamine dönüştürülür. Ketaminin atılımı idrarla gerçekleştirilir.²³ Ketamin, CYP3A4 enzimi ile norketamine dönüştürülür. Ancak, CYP2C9 ve CYP2B6 enzimleri de ketaminin demetilasyonunda rol oynayan minör enzimlerdir.²³ Ketaminin analjezik etkisinde aktif metaboliti olan norketaminin büyük payı bulunmaktadır.²⁴ Ketamin klinikte rasemat halinde kullanılmaktadır. Ihmsen ve ark. S(+)-ketaminin atılımının, rasemik ketamin ve R(-)-ketamine oranla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.²⁵ Ancak, ilaç rasemat formda uygulandığında S(+)-ketamin atılımının saf izomere oranla

daha düşük olduğu bulunmuştur. Bu da, R(-)-ketaminin, S(+)-ketamin eliminasyonunu inhibe ettiğini gösterir. Edmonds ve Mather yaptıkları çalışmada ketaminin tüm vücut dokularına dağıldığını ve en yüksek oranda beyinde bulunduğunu göstermişlerdir.²⁶ Ketamin izomerlerinin dağılım katsayıları hesaplandığında, S-ketaminin dağılım katsayısının R- ketaminin dağılım katsayısından yüksek olduğu bulunmuştur.

2.1.4. Etki Mekanizmaları

Ketamin, beyinde N-metil-D-aspartat (NMDA), opiyat, muskarinik, kolinerjik ve nikotinik reseptörler gibi çeşitli reseptörler ile etkileşir.²⁷ Ketamin, esas olarak NMDA reseptörlerini bloke ederek etki gösterir. S-ketamin insan beyinde, NMDA reseptörlerine R-ketamine oranla 4-5 kat daha fazla bağlanır.²⁸ Ketamin kullanımı durumunda ortaya çıkan farmakolojik etkilerin ve şizofreni benzeri psikotik semptomların NMDA reseptörlerinin aktivitesinin azalmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.^{28, 29} Ketamin ayrıca mü (μ), delta (δ) ve kappa (κ) opiyat reseptörleri ile etkileşir. S(+) izomerin opiyat reseptörleri ile etkileşimi R(-) enantiyomere oranla daha düşüktür.¹⁷ Ketaminin analjezik etkisi muhtemelen opiyat reseptörleri ile etkileşmesine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır.³⁰ Ketamin terapötik dozda ratlarda dopamin salımını artırır.¹⁶ S-ketaminin dopamin salımını, R- ketamine göre daha fazla artırır.³¹ Dopamin seviyesinin artması, psikozda görülen öfori ve mani gibi semptomların nedeni olabilir.³² Ketaminin bronkodilatasyon ve midriazis gibi periferik antikolinergik etkileri, ketamin ile muskarinik reseptörlerin etkileşmesi sonucu gelişebilir.³³ Ketamin, ayrıca nikotinik reseptörlerle direkt olarak etkileşir.²⁷ Akut ketamin uygulamasının doza bağlı olarak ratlarda kortikal asetilkolin salımını arttırdığı, insanlarda ise nikotinik reseptörlerin inhibisyonuna yol açtığı bildirilmiştir.³⁴ Ketaminin, voltaja duyarlı kalsiyum kanallarını bloke edici özelliği bulunmaktadır.¹⁷ İlaç subanestetik dozlarda verildiğinde serebral kan akımını artırır, ancak oksijen

metabolizmasını etkilemez.³⁵ Ketamin enantiyomerleri santral glukoz metabolizması üzerinde zıt etkiler oluşturur. S(+)-ketamin santral sinir sisteminde glukoz metabolizmasını arttırırken, R(-)-ketamin azaltmaktadır.²⁸

2.1.5. Yan etkileri

Ketamin subanestetik dozda şizofreniye benzer disosiyatif semptomların gelişimine ve kognitif bölgelerde bozukluğa neden olur.³⁶ Ketamine bağlı psikotik reaksiyonlarda kişilik bozukluğu, hafıza bozuklukları, gerçeklik duygusunun kaybı, ilüzyonlar ve halüsinasyonlar, düşünce bozuklukları, paranoid fikirler, ruhsal değişimler ve apati gibi semptomlar gelişir.³⁷ Ancak, ketamin kullanımına bağlı olarak en sık ortaya çıkan yan etki taşikardidir. Göğüs ağrısı ve palpasyonlarda görülebilir.³⁸ Hızlı ve zor solunum, apne, hipertansiyon, kalp aritmileri, laringospazm, bulantı, kusma, konvülsiyonlar, ateş, koordinasyon kaybı, hareket bozuklukları, bulanık görme, nistagmus, konuşma güçlüğü, acı hissinin kaybı ve kas spazmları ketamine bağlı olarak gelişen diğer yan etkilerdir.³⁹

2.1.6. Ketamin Suistimali

Ketamin, birçok ülkelerde suistimal edilen bir ilaç haline gelmiştir.³⁸ İlacın suistimali ve buna bağlı ölümler son yıllarda artmıştır.⁴⁰ Ketaminin, nargoda özel K, K, kit-kat, süper asit, süper K, vitamin K ve jet gibi isimleri bulunmaktadır.⁴¹ Subanestetik dozda ketamin kullanımı durumunda “K boşluğuna düşme”, “K-odası ” veya “K- land” olarak adlandırılan disosiyatif etkiler ortaya çıkar. Algı bozukluğuna bağlı olarak “vücudun dışına çıkma” veya “ölümün kıyısında olma” gibi adlar verilen hisler ortaya çıkar. Ayrıca, canlı hayaller ve ilüzyonlar görülür. Ketamin, bu etkilerin ortaya çıkması için, genellikle 100-200 mg dozda kullanılır.⁴⁰ Madde intramusküler, oral veya inhalasyon yolu ile uygulanabilmektedir.⁴² Eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 2 saat olduğundan, ketamine bağlı psikomimetik etkilerin süresi fensiklidin kullanımına bağlı

olarak gelişen benzer etkilerin süresinden kısadır.⁴³ Ketaminin akut etkileri, uygulandıktan sonra 15-45 dk içinde ortadan kalkar.⁴¹ Ancak ketamin alındıktan günler veya haftalar sonra görme bozuklukları ve flashback meydana gelebilir. Ketamine bağlı flashback gelişim sıklığı diğer halüsinojenlerden daha fazladır.⁴³ Ketamine bağlı ölüm olayları görülmektedir.⁴⁴ Ketamin ile beraberinde kullanılan diğer maddeler arasında toksik etkileşmeler olabilir. Örneğin, ketamin benzilekgonin ve norkokain gibi aktif kokain metabolitlerinin plazma konsantrasyonlarının yükselmesine yol açarak, kokainin toksikolojik profilini değiştirebilir.⁴⁵ Ketamin tarafından kokainin oksidatif metabolizasyonunun etkilenmesi sonucunda, kullanıcıda immünsupresyon gelişebilir.⁴⁶ Ayrıca, farelerde ketamin ile kokainin kombine halde uygulanması durumunda ortaya çıkan teratojenik etkinin, maddelerin her birinin tek başına oluşturduğu teratojenik etkiden fazla olduğu gösterilmiştir.⁴⁷ Ketamin kullanılmaya başlandıktan sonra birkaç hafta içinde tolerans gelişir ve günlük olarak alınan ketamin dozu 4g'a kadar yükselebilir. Tolerans gelişen kronik ketamin kullanıcılarında, maddenin kullanımı bırakıldığında, titreme, otonomik canlanma, lakrimasyon, aşırı hareketlilik, kabuslar, psikolojik olarak maddeye özlem duyma ve paranoya gibi semptomlarla belirgin yoksunluk belirtileri ortaya çıkabilir.⁴¹ Ketamin intoksikasyonu gelişen kişilere, destekleyici tedavi uygulanarak santral sinir sisteminin aşırı etkilenmesine bağlı semptomlar kontrol altına alınır ve hastada sedasyon sağlanır. Sedasyon amacı ile tek doz veya gerekli durumlarda daha fazla dozda benzodiazepinler verilir. Ani hipertermi, hipertansiyon, rabdomyoliz ve serotonin sendromu gelişme ihtimali bulunduğundan, hasta bu komplikasyonlara karşı dikkatle izlenmelidir. Maddenin oral yoldan alınması durumunda detoksifikasyon amacı ile aktif kömür verilmesi etkilidir.^{38, 48} Ketamine bağlı olarak gelişen psikoz ve yoksunluk sendromu, lorazepam (3 mg/gün), propranolol (40 mg/gün), diazepam (10 mg/gün) ve naltrekson (50 mg/gün) ile kombine ilaç terapisi

uygulanarak hızla tedavi edilebilir.⁴¹ Daha şiddetli psikoz gelişimi durumlarında haloperidol (günde 4.5 mg doza kadar) de etkilidir.⁴⁹

2.2. Nimesulid

Nimesulid (N- (4-nitro-2-phenoxyphenyl)) 308.31 g/mol molekül ağırlığında, $C_{13}H_{12}N_2O_5S$ moleküler formüle sahip, COX-2 inhibitör etkili nonsteroid antiinflatuar ilaçtır.⁵⁰ Nimesulidin güçlü analjezik, antipiretik ve antiinflatuar bir ilaçtır.⁵¹

2.2.1. Etki Mekanizması

Nimesulid COX-2 enzimini COX-1' e göre daha fazla selektif inhibe ettiğini kanıtlanmıştır.⁵²⁻⁵⁴ Nimesulidin kısmen sitokinleri inhibe ederek analjezik etki gösteriyor.^{52, 55} Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), makrofaj inflamatuvar protein 1α (MIP- 1α), endotelin-1 (ET-1), kortikotropin relasing faktörden (CRF) kaynaklanan ateşi azaltır.⁵⁶ PG sentezini inhibe ederek nötrofil fonksiyonlarını ve integrin aracılığıyla nötrofil adezyonunu önleyerek antipiretik etki.⁵⁷ Trombosit Aktive Edici Faktör (PAF) ve nötrofillerde lökotrien B₄ (LTB₄) sentezini inhibe eder. Bu inhibisyonu cAMP seviyesini arttırarak yapar.⁵⁸ CD11b/CD18 integrin ile de nötrofillerin heterotipik adezyonunu azaltır.⁵⁹ İnflamasyon alanında ödemi ve lökosit infiltrasyonu baskılar.⁶⁰ İnflamasyon alanında artan kapiller permeabilityi azalttığı, inflamasyonun akut ve kronik fazlarını baskıladığı⁶⁰ ve antioksidan özelliğe sahip olduğu kanıtlanmıştır.⁶¹

2.2.2. Yapı-Aktivite ilişkisi

Non Steroid Antiinflatuar ilaçlar farklı kimyasal yapılara sahip olsalar dahi hemen hemen hepsi yan zincir, asidik grup ve bir düzlemsel aromatik grup içerir.^{62, 63} Non Steroid Antiinflatuar ilaçlardan farklı olarak, selektif COX-2 inhibitörleri karboksilik asit (-COOH) taşımazlar. Selektif COX-2 inhibitörlerin alt grubu “asidik sülfonamidler” grubunda yer alıp⁶³, yapısında bir metansülfonamid grubu bulunur.⁶⁴⁻⁶⁶

COX-2 enzimi keşfedilmeden önce, nimesulidin antiinflamatuvar etkisi, yapısında bulunan p-nitro sülfonil aminofenilin radikal süpürücü etkisine bağlanmaktaydı.⁶⁷ COX-2 enziminin keşfedildikten sonra, nimesulidin antiinflamatuvar etkisinin ve COX-2 enzmine selektif olduğu yapısındaki metansülfonamid grubundan kaynaklandığı tespit edildi.⁶⁸ Fakat daha öncesinde p-nitro sülfonil aminofenilin radikal süpürücü etkisine bağlı olduğu düşünülüyordu.⁶⁷ Nimesulidde bulunan metil sulfonamid grubu, diğer ilaçlardaki sülfonamid grubuna göre hacimli olduğu için COX-2 enzimi ile çok daha güçlü etkileşme sağlar. COX-1 ve COX-2 enzimlerine bağlanma enerjileri diğer COX-2 inhibitörlerinkinden farklıdır ve COX-2 enzim selektivitesinin bu enerji farklılıklarından etkilendiği düşünülmektedir.⁶⁸

2.2.3. Kullanıldığı Yerler

Ağrı, ateş ve inflamasyon, solunum yolu enfeksiyonları, allerjik rinit, tromboflebit, osteoartrit, dismenore ve kanser ağrılarında kullanılır.⁶⁹⁻⁷¹ Akciğer kanserinde (Non-Small cell) radyoterapiyle beraber kullanılması önerilir.⁷² İn vitro ve in vivo olarak birçok kanser tedavisinde kullanılmasına rağmen; literatürlerde klinikte kansere karşı kullanım ile ilgili bilgiye rastlanmamıştır.

2.2.4. Yan Etkileri

Selektif COX-2 inhibitörlerinin midede hasar oluşturmadığı, aksine iyi tolere edildiği göstermiştir.⁷³ Nimesulid selektif olan diğer COX-2 inhibitörleri ile kıyaslandığında farkedilebilir bir kardiyovasküler toksisite oluşturmaz.⁷⁴ Selektif COX-2 inhibitörleri trombosit faktörlerini inhibe etmediği için, tromboksan A₂ inhibisyonu yapmadığı için kanama riski neden olmaz. Damarlarda prostasiklin sentezini baskılayarak kardiyovasküler olayları arttırma hipotezini destekler.⁷⁵ Bağırsakta kriptaları ve villusları azalttığı gösterilmiştir. Kript ve villuslardaki azalma, maltoz, sükroz, laktoz ve alkalın fosfataz aktivitelerindeki değişikliklerden kaynaklandığı

düşünülmektedir.⁷⁶ Nimesulid tedavisine bağlı kolestaz ya da sentrilobüler hepatosellüler nekroz şeklinde hasar oluştuğunu gösteren bazı çalışmalar bulunmaktadır.^{77, 78} Albino farelerde yapılan deneylere göre, yüksek konsantrasyonlarda da nimesulidin karaciğerde mitokondriyal disfonksiyona yol açmadığı gösterilmiştir.⁷⁹ İmplantasyon ve desidualizasyonda gecikmeye neden olarak gebelik süresinin uzamasına neden olmuştur. Yavruların doğum ağırlıklarının ve boyutlarının azalması görülmüştür.⁸⁰ COX inhibitörleri midede belirgin hasara yol açar, fakat selektif COX-2 inhibitörleri midede hasar oluşturmazlar. Nimesulid NSAİİ ilaçların oluşturduğu hasarı önlerken, diğer selektif COX-2 inhibitörleri bu hasarı önleyemezler.⁸¹⁻⁸⁴

2.3. Serbest Oksijen Radikalleri

Son yörüngede paylaşılmamış elektron içeren molekül ya da atomdur. Bu yüzden diğer radikallerle veya moleküllerle reaksiyona girip karalı bir konfigürasyon oluştururlar.^{85, 86} Elektronların transferi ile serbest radikaller oluşur. Başka oluşma şekli de moleküldeki bağların parçalanması sonucu olur(hidrojen peroksit (H_2O_2) ,hidroksil radikali ($OH\bullet$) ve süperoksit (O_2^-)). Oksijen, katekolaminlerin ve doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile NADPH bağımlı oksidazların oluşmasında iştirak eder.^{87, 88}

Serbest oksijen radikalleri membranda doymamış yağlardaki bağları kopararak, membran seçiciliğini, membran viskozitesini ve geçirgenliğini bozarlar.^{89, 90} Bu şekilde enzim aktivasyonunu, proteinlerin fonksiyonunu ve iyon transferini bozarlar. Fe^{++} iyonu ile reaksiyona girmesi sonucunda da proteolizis oluşturur. DNA'daki sakkarit içeren halkalarında kopmalar sonucu mutasyonlar, bazlardaki modifikasyonlar sonucunda translasyon hataları, zincir kırılmaları ile protein sentezinin baskılanmasına neden olarak hücre ölümüne yol açar.⁹¹

2.3.1. Serbest Radikal Çeşitleri

2.3.1.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)

Oksijenin dışarıdan bir elektron alarak indirgenmesi ile oluşur. Makrofaj, eozinofil, monosit ve nötrofil gibi fagositik hücrelerde üretilir. Dokularda bulunan süperoksit dizmutaz (SOD) enzimi ile hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüştürüldüğü için süperoksit radikali dokularda fazla oksidatif hasara yol açmaz. Zararları, geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmaları ve hidrojen peroksit kaynağı olmasından kaynaklanıyor.^{92, 93}

2.3.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Moleküler oksijenin iki elektron alması sonucu oluşur. Canlı sistemlerde hidrojen peroksitin kaynağı, süperoksit radikalinin dismutasyon reaksiyonudur. Ayrıca bazı (ürat, glikoz, D-aminoasit oksidazlar) oksidazlar iki elektronunu oksijene vererek H_2O_2 oluştururlar. H_2O_2 ortaklanmamış bir elektron içermediğinden oksidan özelliği çok zayıftır. Fakat demir ve bakır gibi geçiş metalleri varlığında süperoksit radikalleri ile reaksiyon sonucu, en reaktif ve en toksik SOR olan hidroksil radikalini oluştururlar.⁹⁴

2.3.1.3. Hidroksil Radikali ($\cdot OH$)

Suyun iyonlarına ayrılması neticesinde oluşan ve oluştuğu yerde büyük hasarlara neden olan reaktif bir oksidandır. Dokular üzerindeki en iyi bilinen hasarı, lipid peroksidasyonudur.⁹⁵

2.3.1.4. Singlet Oksijeni (1O_2)

Eşleşmemiş elektron ya da elektronlara sahip olmadığından dolayı bir serbest radikal değildir. Fakat orbitalinde içerdiği elektronların aynı yönlü olması singlet oksijenin diğer SOR ile okside olmasını artırmaktadır. Singlet oksijeni özellikle fotokimyasal reaksiyonlar için önemlidir.⁹⁶

2.3.1.5. Nitrik Oksit (NO) ve Azot Dioksit (NO₂)

Nitrik oksit ve azot dioksit eşleşmemiş elektronları ile birer radikaldirler. NO₂, NO'nun oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu meydana gelir. NO₂ oldukça zehirli ve çok güçlü bir oksidandır.⁹⁴ in vivo olarak L-arginin amino asidinden üretilmektedir NO. NO eşleşmemiş elektronları sayesinde süperoksit, tiyol grupları ve azot dioksit ile hızlı reaksiyonlar oluşturmaktadır. Diğer radikallerle birlikte diabetes mellitus, septik şok, kalp bozuklukları, alzheimer hastalığı ve gastrik hasar oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir.⁹⁷

2.3.2. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest oksijen radikalleri (SOR) hücreler için hayati öneme sahip olan yağların, proteinlerin ve DNA'nın hasarına yol açarlar. Serbest radikallerin en belirgin etkileri, yağ asitleri üzerine olan etkileridir. Radikaller yağ asitlerini etkileyerek lipid peroksidasyonunu (LPO) başlatırlar. LPO, poli doymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu neticesinde başlayan, oto katalitik reaksiyonlar şeklinde süren, organizmada hasarlara sebep olan reaksiyonlar sürecidir. LPO sonucu toksik olan aldehitler oluşmaktadır. Malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (HNE) bu aldehitlerden en iyi bilinenleridir. LPO'nun değerlendirilmek için MDA ölçümü yapılır. Aldehitler, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olarak, membranlarda reseptörleri ve membrana bağlı enzimleri inaktive etmek suretiyle membran proteinlerinin de hasarına neden olurlar.⁹⁸

Proteinlerin radikallerden etkilenme dereceleri, içerdikleri aminoasit bileşimine bağlıdır. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerden oluşan proteinler serbest radikaller tarafından daha çabuk etkilenirler. Proteinlerin radikallerle reaksiyona girmesi ile sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller oluşur.⁹⁹

Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan MDA'nın nadir de olsa DNA'da mutasyona sebep olduğu, kansere ve bazı genetik hastalıklara yol açtığı düşünülmektedir.¹⁰⁰ Hidroksil radikali, nükleik asitlerdeki doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarma yada çift bağlara katma reaksiyonları ile DNA hasarına yol açar. Süperoksit anyonu güçlü bir oksitleyici. Bu yüzden guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler bulunduran moleküllerle daha kolay tepkimeye girer.¹⁰¹ Aktive olmuş nötrofillerin ürettiği H_2O_2 , membranlardan kolayca geçer, hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarlanmasına, hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve hücre ölümüne yol açabilir. SOR ile DNA'nın oksidatif hasarı sonucu, karsinogenez ve çeşitli hastalıklar görülebilir.¹⁰²

2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest oksijen radikal oluşumunu engelleyen antioksidanların savunma sistemi enzimatik ve non enzimatik olmak üzere ikiye ayrılır. MPO, SOD, CAT, GPx, GR-az ve GST enzimatik antioksidanlardır. GSH, karoten, membrana bağlanabilen tokoferol, askorbat, seruloplazmin, transferin ve bilirubin ise enzimatik olmayan antioksidanlardır.¹⁰³⁻¹⁰⁵

2.4.1. Endojen (Doğal) Antioksidanlar

2.4.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Mitokondirlerde bulunan ve O_2^- 'in H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. Mitokondride bulunan tetramerik Mn ihtiva eden Mn-SOD, sitozolde bulunan dimerik ve Zn Cu içeren Cu-Zn SOD ve extraselüler etki yapan EC SOD olmak üzere üç tip SOD var. Bütün canlılarda bulunan SOD un tüm çeşitleri süperoksit gibi saldırgan bir radikalin etkisini ortadan kaldırır. SOD'un, canlılarda önemli roller üstlendiği ve yaşamsal etkiye sahip olduğu düşünülmektedir.¹⁰⁶

2.4.1.2. Katalaz (KAT)

Hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve suya dönüştüren bir enzim çeşididir. Katalaz aktivitesi eritrosit, karaciğer ve böbrekte yoğundur. Katalaz enzimi karaciğerde hücre mitokondrisinde, alyuvarların sitoplazmasında ve hücrelerin peroksizomlarında bulunur.¹⁰⁷

2.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Hücre lipitlerini peroksidasyondan koruyan ve hidrojen peroksitleri uzaklaştıran bir antioksidandır. Hidroperoksidler redükte olarak okside glutatyonla dönüşür, bu da glutatyon reduktazın (GR-az) katalizörlüğünde glutatyonla (GSH) çevrilir. GPx sitozollerde yüksek miktarda bulunmakta.¹⁰⁸ Ayrıca GPx eritrositleri oksidatif strese karşı koruyan ve eritrositlerde bulunan en güçlü antioksidandır.^{109, 110}

2.4.1.4. Glutasyon Reduktaz (GR-az)

Yükseltgenmiş olan glutatyonu (GSSG) indirgenmiş (GSH) hale dönüştüren enzimdir. Bu reaksiyonun gerçekleşmesi için de glutatyon peroksidaz NADPH'a ihtiyaç duyar.¹¹¹

2.4.1.5. Glutasyon S-Transferaz (GST)

Lipit peroksitlerine karşı bir savunma mekanizması oluştururlar. Karaciğerde sitokrom p-450 ile detoksifikasyona yardımcı olurlar.¹¹²

2.4.1.6. Glutasyon (GSH)

Hücreleri oksidatif stres ve radyasyona karşı koruyan tripeptid yapısındaki indirgenmiş glutatyonudur. Hemoglobin ve eritrosit proteinlerinde bulunan sistein rezidülerini indirgenmiş halde tutarak tampon fonksiyonu yapar. H_2O_2 ile reaksiyona girerek H_2O_2 'yi eritrositlerden uzaklaştırır.¹¹¹ Bu reaksiyon da GPx katalizörlüğünde gerçekleşiyor. Glutasyonun seviyesi glutatyon sentetaz, glutatyon reduktaz, γ -glutamil

transpeptidaz, glutatyon peroksidaz ve aminoasit transporterleri gibi çoklu bir enzim sistemi tarafından korunur.¹¹³

2.4.1.7. Myeloperoksidaz (MPO)

Nötrofillerde granüllerinde fazlaca bulunan, H_2O_2 'den hipoklorik asit (HOCl) oluşturan bir enzimdir. Asidik pH ya bağlı olarak MPO aktivitesi artış gösterir. Artan MPO aktivitesiyle H_2O_2 membranı kolayca geçerek bakteriye toksik etki yapar ya da hidroksil ($OH\bullet$) radikaline dönüşür. Myeloperoksidaz Cl^- iyonlarını vasıtası H_2O_2 'yi HOCl' ye dönüştür. Oluşan çok reaktif HOCl biyolojik molekülü oksitler.^{111, 114}

2.4.2. Ekzojen Antioksidanlar

2.4.2.1. Vitamin E

Vitamin E güçlü antioksidan etkiye sahip, yağda çözünen vitamindir. Hidroksil, süperoksit ve lipid peroksit radikalleri indirger. Peroksitlerin sentezini engelleyerek hücre membranında koruyucu katman oluşturur.¹¹⁵

2.4.2.2. Vitamin C (Askorbik asit)

Askorbik asit hidroksilasyon reaksyonlarında indirgeyici aktiviteye sahip antioksidandır. Hidroksil ve süperoksit radikalleri ile reaksiyona girip onları ortadan kaldırır.¹¹⁶

2.4.2.3. Karotenoid

β – karoten antioksidan etki gösterir. Bu etkisini süperoksit dismutaz, singlet oksijen ve peroksit radikalleri ile etkileşerek gösterir.

2.4.2.4. Melatonin

En zararlı serbest hidroksil radikalini ortadan kaldırarak etki oluşturan en güçlü antioksidandır.¹¹⁷ Serbest hidroksil ile reaksiyonu sonucu İndolil katyon radikaline çevrililerek süperoksit radikalini tutarak antioksidan etki gösterir. Bazı gltatyon

peroksidaz, superoksit dismutaz, glutatyon reduktaz gibi antioksidan enzimlerini artırır ve bu şekilde oksidatif stresi baskılar.^{118, 119}



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deney Hayvanları

Deney hayvanları, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıbbi Deneyisel Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edildi. Deneyde kullanmak için ağırlıkları 210-220 gram arasında değişen toplam 84 adet Albino Wistar türü erkek sıçanlar rastgele seçildi. Hayvanların ortama adapte olabilmeleri için deneyden önce Farmakoloji laboratuvarında bir hafta oda sıcaklığında (22°C) barındırıldı ve beslendi.

3.2.1. Deney Grupları

3.2.1.1. Test I Deney Grupları

Test I'de kullanılacak sıçanlar 50 mg/kg nimesulid (N-50), 100 mg/kg nimesulid (N-100), 50 mg/kg nimesulid+60 mg/kg ketamin (NKTA-50), 100 mg/kg nimesulid+60 mg/kg ketamin (NKTA-100), 60 mg/kg ketamin alan kontrol (KTAC-60) ve sağlıklı (SG) gruplara ayrıldı. Her grupta 6 hayvan kullanıldı.

3.2.1.2. Test II Deney Grupları

Test II deney hayvanları 50 mg/kg nimesulid+60 mg/kg ketamin (NKTA-50), 100 mg/kg nimesulid+60 mg/kg ketamin (NKTA-100) ve 60 mg/kg ketamin uygulanan kontrol gruplara (KTAC-60) ayrıldı. Her grupta 6 hayvan kullanıldı.

3.2.1.3. Test III Deney Grupları

Test III deney hayvanları 50 mg/kg nimesulid (N-50), 100 mg/kg nimesulid (N-100), 50 mg/kg nimesulid+30 mg/kg ketamin (NKTA-50), 100 mg/kg nimesulid+30 mg/kg ketamin (NKTA-100) ve 30 mg/kg ketamin uygulanan kontrol (KTAC-30) gruplara ayrıldı. Her grupta 6 hayvan kullanıldı.

3.2.2. Deney Prosedürü

3.2.2.1. Test I Deney Prosedürü

Nimesulidin Ketamin Kardiyotoksitesine Etkisi

Sıçanların N-50 ve NKTA-50 grubuna 50 mg/kg, N-100 ve NKTA-100 grubuna ise 100 mg/kg dozlarda nimesulid oral yoldan sonda ile uygulandı. KTAC-60 ve SG gruplarına eşit oranda çözücü olarak distile su aynı yoldan verildi. Nimesulid ve distile su uygulandıktan bir saat sonra N-50, N-100 ve SG grubu hariç tüm sıçan gruplarına ketamin (60 mg/kg) intraperitoneal (ip) yoldan enjekte edildi. Bu prosedür günde bir kez 30 gün tekrar edildi. Bu süre sonunda hayvanlar dekapitasyonla öldürüldü ve çıkartılan kalp dokularında oksidan, antioksidan düzeyleri ölçüldü. Hayvanların kuyruk venlerinden alınan kan örneklerinde ADR, CK-MB ve TI seviyeleri tayin edildi. Nimesulid ve ketamin uygulanan gruplardan elde edilen sonuçlar, kontrol ve sağlıklı gruplardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırılarak değerlendirildi.

3.2.2.2. Test II Deney Prosedürü

Nimesulidin Ketamin Anestezi Süresine Etkisi

Deneyin bu serisinde NKTA-50 grubuna 50 mg/kg, NKTA-100 grubuna ise 100 mg/kg dozlarda nimesulid oral yoldan sonda ile verildi. KTAC-60 sıçan grubuna çözücü olarak distile su aynı yoldan uygulandı. Nimesulid ve distile su verildikten bir saat sonra, tüm hayvan gruplarına ketamin 60 mg/kg dozda ip yoldan enjekte edildi ve ketaminin anestezi süresi ölçüldü. Hayvanların sırtüstü pozisyonda hareketsiz kaldığı süre, cerrahi girişim için uygun bir anestezi süresi olarak kabul edilmektedir.¹²⁰ Kan örnekleri ketamin uygulandıktan beş dakika sonra alınarak adrenalın ADR düzeyleri ölçüldü.

3.2.2.3. Test III Deney Prosedürü

Nimesulidin Ketamin Analjezik Aktivitesine Etkisi

Test III deney hayvan gruplarının normal pençe ağrı eşikleri ilaçlar verilmeden önce Basile aljezimetre kullanılarak ölçüldü. Daha sonra N-50 ve NKTA-50 grubuna 50 mg/kg, N-100 ve NKTA-100 grubuna ise 100 mg/kg nimesulid sonda ile oral olarak verildi. KTAC-30 grubuna ise eşit oranda distile su alması sağlandı. İlaçlar ve distile su verildikten bir saat sonra NKTA-50, NKTA-100 ve KTAC-30 gruplara 30 mg/kg dozda ketamin enjekte edildi. Ketamin enjeksiyonundan 5 dakika sonra tüm hayvan gruplarının pençe ağrı eşikleri tekrar ölçüldü ve yukarıda belirtildiği gibi, hayvanların pence ağrı eşikleri ölçüldükten hemen sonra kan örnekleri alınarak ADR miktar ölçümü yapıldı.

3.3. Kullanılan Cihaz ve Kimyasal Maddeler

Tablo 3.1. Deneyler aşamasında kullanılan cihazlar ve temin edildikleri firma isimleri aşağıda belirtilmiştir.

Cihazlar	Modeli ve Firması
Analgesy-Meter	Ugo Basile, USA
Santrifüj (Soğutmalı)	Heraeus 4600, Germany
Mikro Santrifüj	MSE, Micro Centaur, Sanyo, UK
Homojenizatör	OMNI International
Hassas Terazı	SartoriusnAG Gottingen Tip No: BA 3105, Germany
Distile Su Cihazı	Easypure RF Compact Ultrapure Water Sysytem, USA
Karıştırıcı	Vortex- Geine, Model K 550-EG Massachusetts, USA
Magnetik Karıştırıcı	Labincol 32, Netherlands
Plate Çalkalayıcı	IRMA Shaker Labsan, USA
Su Banyosu	Nüve BM 101, Nüve malz. San. Lim. ve Tic. A.Ş. Ankara
pH Metre	Jenway 3010 pH Meter, UK
Derin Dondurucu	Sanyo Ultra Low, Sanyo Electric Co Ltd., Japan
Otomatik Pipet	Finpipette Lasysystems, Finland
Spektrofotometre	Beckman DU 500, USA
Leica Bond-Max	LEICA BIOSYSTEMS
Olympus BX 51	OLYMPUS, Japan
HPLC	Agillent, USA

3.4. Biyokimyasal Analizler

3.4.1. Kalp Dokusunun Biyokimyasal Analizi

Malondialdehit (MDA) ve endojen glutatyon (tGSH) miktarlarını ölçmek için kalp dokularından homojenatlar hazırlandı. Bu homojenatlardan elde edilen süpernatantlarda tGSH ve MDA miktarları literatüre dayalı, uygun metotlar kullanılmak suretiyle saptandı.

3.4.2. Numunelerin Hazırlanması

Çalışmanın bu aşamasında çıkarılan her bir kalpten 0,2 g. tartıldı. Dokular MDA tayini için %1.15'lik potasyum klorür çözeltisi, tGSH ölçümü için pH=7.5 olan fosfat tamponu içinde 2 ml.'ye tamamlanarak buzlu ortamda homojenize edildi. Daha sonra 15 dakika +4 °C'de 10000 rpm'de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant analiz numunesi olarak kullanıldı.

3.5. Biyokimyasal Parametrelerin Tayini

3.5.1. Malondialdehit (MDA) Tayini

Yüksek sıcaklıkta (95 °C) tiyobarbitürik asit (TBA) ile MDA'nın oluşturduğu pembe renkli kompleksin absorbansının 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır.⁹³

3.5.2. Total Glutatyon (tGSH) Tayini

Ölçüm ortamındaki DTNB [5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)] disülfid bir kromojendir ve sülfidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenir. Meydana gelen sarı renk 412 nm spektrofotometrik olarak ölçülür.¹²¹

3.5.3. Serum CK-MB Tayini

Deney hayvanların kan örneklerinden elde edilen plazmada kreatin kinaz MB tayini Roche/Hitachi cobas c 701 sisteminde ölçüldü ve prosedüre uygun olarak immunolojik UV testi ile gerçekleştirildi. CK-M'ye spesifik antikorların yardımıyla

numune içindeki CK-M alt birimlerinin katalitik aktivitesi CK-B alt birimleri etkilenmeden %99,6'ya inhibe edilir. CK-MB aktivitesinin yarısına karşılık gelen CK-B aktivitesinin kalanı total CK yöntemiyle tayin edilir.

3.5.4. Serum Troponin I Tayini

Plazmada Troponin I seviyeleri VIDAS Troponin I Ultra kitinde, ELFA (Enzyme- Linked Fluorescent Assay) tekniği kullanılarak ölçüldü. Kitteki hazır olan test reaktifleri kullanılarak testin tüm adımları VIDAS cihazında otomatik olarak yapıldı. Numune alkalın fosfataz (konjugat) ile işaretlenmiş anti-kardiyak troponin I antikorları içeren kuyuya transfer edildi. Numune konjugat karışımı, katı faz sağlayıcının içine çekilip bırakılarak, antijenin katı faz bağlayıcının iç duvarına bağlı olan troponin I ve konjugata bağlanması sağlandı. Bağlanmayan içerik yıkamayla uzaklaştırıldı. Konjugat enzim, substrat olan 4-metil umbeliferil fosfatın floresansı 450 nm'de ölçülen bir ürün olan 4-metil umbeliferona hidrolizini katalize eder. Floresansın yoğunluğu numunede bulunan antijen konsantrasyonu ile orantılıdır.

3.5.5. Adrenalin Tayini

Çalışmaya dahil edilen ratlardan alınan kan örnekleri 2 mL'lik EDTA'lı vakumlu tüplere aktarıldı. EDTA'lı örnekler 3500 rpm'de 5 dk santrifüj edildi ve üstte kalan plazma örnekleri çalışma gününe kadar -80 °C'de dondurularak muhafaza edildi. Plazma adrenalin, konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla ölçümler, yüksek-performanslı likit kromatografisi (HPLC) cihazında (Agilent 1100, Germany) yapıldı. Ölçüm kiti olarak Catecholamins in Plasma - Reagent kit for HPLC (Chromsystems, Germany) ticari kiti kullanıldı. Kit prosedürü esas alınarak sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi: Solid faz ekstraksiyon kartuşlarına 500 µL Extraction Buffer eklendi ve kartuşlar hafifçe karıştırıldı. Sonra 1 mL plazma ve 50 µL Internal Standart eklendi ve 10 dk boyunca alt-üst edilerek karışmaları sağlandı. Kartuşlar santrifüj edildi ve

elüentler uzaklaştırıldı. 1 mL Wash Buffer eklendi ve 4000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilerek elüentler uzaklaştırıldı. Daha sonra 120 µL Eluent Buffer eklendi ve 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. 2000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi ve elüentler HPLC'de ölçüm için kullanıldı. Elektrokimyasal dedektör kullanılarak yapılan ölçümlerde HPLC parametreleri; injeksiyon hacmi: 40 µL, akış hızı: 1 mL/dk, potansiyel: 400 mV, kolon sıcaklığı: 25°C, analiz süresi: 20 dk olarak ayarlandı. Sonuçlar kromatogramdaki pik alanları hesaplanarak elde edildi.

3.6. DNA Oksidasyon Analizi

3.6.1. Dokunun Hazırlanması

Kalpten alınan 50-200 mg doku buzda ya da +4 °C'de 1 mL homojenizasyon tamponu ile (30 mM Tris pH 8, 10 mM EDTA, 10 mM 2-merkapto etanol, % 0.5 (v/v) Triton X-100) mekanik homojenizatör ile homojenize edildi. Daha sonra bu karışım 10 dakika 1000 g' de santrifüj edilerek süpernatant kısmı çıkartıldı. Elde edilen pellet 1 mL ekstraksiyon tamponu ile (0.1 M Tris pH 8, 0.1 M NaCl, 20 mM EDTA) tekrar süspanse edildi ve 30 sn vortekslenerek homojen hale getirildi. Daha sonra 1000 g' de 2 dk santrifüj edildi. Elde edilen pellet tekrar ekstraksiyon tamponu ile süspanse edildi. Süspansiyon vortekslenerek iyice karışması sağlanır. Karışıma 400 µL fenol eklenir ve 1 dakika kuvvetlice vortekslenir. Fazların ayrılması için oda sıcaklığında 10 dakika beklenir ve üst faz ayrılarak temiz bir tüpe konulur. Temiz tüpe alınan kısma 400 µL kloroform-isopropanol eklenerek (24:1) 10000 g de 10 dakika santrifüj edilir ve üst faz yine temiz bir tüpe alınır. Bu esnada kontaminasyondan kaçınılmalıdır. Son santrifüjden elde edilen karışıma 40 µL 3 M sodyum asetat pH 5 ve 800 µL buz soğukluğunda etanol eklenerek yavaşça alt üst edilerek karışması sağlanır. 10000 g' da 15 dakika santrifüj edilir üstte kalan kısım tamamen uzaklaştırılır ve altta kalan kısma 1 mL%70 lik etanol eklenir.¹²²

3.6.2. Formik Asitle DNA Hidroliz İşlemi

Son olarak elde edilen 1 mL lik karışıma 0.5 mL %60' lık formik asit eklenir. Tüplerin ağzı kapatılır. 60 dakika 150 °C' de bekletilir. Tüplerin soğuması beklenir. Soğuyan tüplerdeki formik asitin uzaklaşması için oda sıcaklığında bekletilir ve yaklaşık 1 mL' lik karışım -20 °C de çalışma gününe kadar saklanır.¹²³

3.6.3. 8-Hidroksiguaninin HPLC ile Analizi

8-OHdG ve dG seviyeleri daha önceden tanımlanmış olan sistemlerle çeşitli dalga boylarında HPLC-UV ve HPLC-ECD elektrokimyasal dedektörlerle HPLC de ölçüldü. HPLC analizinden önce, hidrolize DNA örnekleri HPLC eluenti ile yeniden çözüldü. Son hacim 1 mL oldu. 20 µL son hidrolizat HPLC-ECD enjekte edildi. (HP, HP 1049A ECD dedektör, Agilent 1100 modüler sistemler HP 1049A ECD dedektör, Almanya) Ters faz C18 (RP-C18) analitik kolon kullanıldı. (250 mm x 4.6 mm x 4.0 µm, Phenomenex, CA). Mobil faz, dakikada 1 mL akış hızına sahip olan asetonitril (97: 3, v/v) içeren 0.05 M potasyum fosfat [pH 5.5] tamponundan oluşmuştur. dG konsantrasyonunun 245 nm' de absorbanı ölçülerek, 8-OHdG elektrokimyasal okumayla (600 mV) gözlemlendi. dG ve 8-OHdG, Sigma marka dG ve 8-OHdG standartları kullanılarak miktarları belirlendi. DNA hasarı göstergesi olarak 8-OHdG7 dG10⁶ olarak verildi.^{124, 125}

3.7. İstatistiksel Analizler

Deneylerden sonuçları “ortalama değer ± standart hata” ($\bar{x} \pm SEM$) olarak ifade edildi. Gruplar arası farkın önemlilik derecesi one-way ANOVA testi kullanılarak belirlendi. Takibinde LSD testi yapıldı. Tüm istatistiksel işlemler “SPSS Statistics Version 18” istatistik programında yapıldı, $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

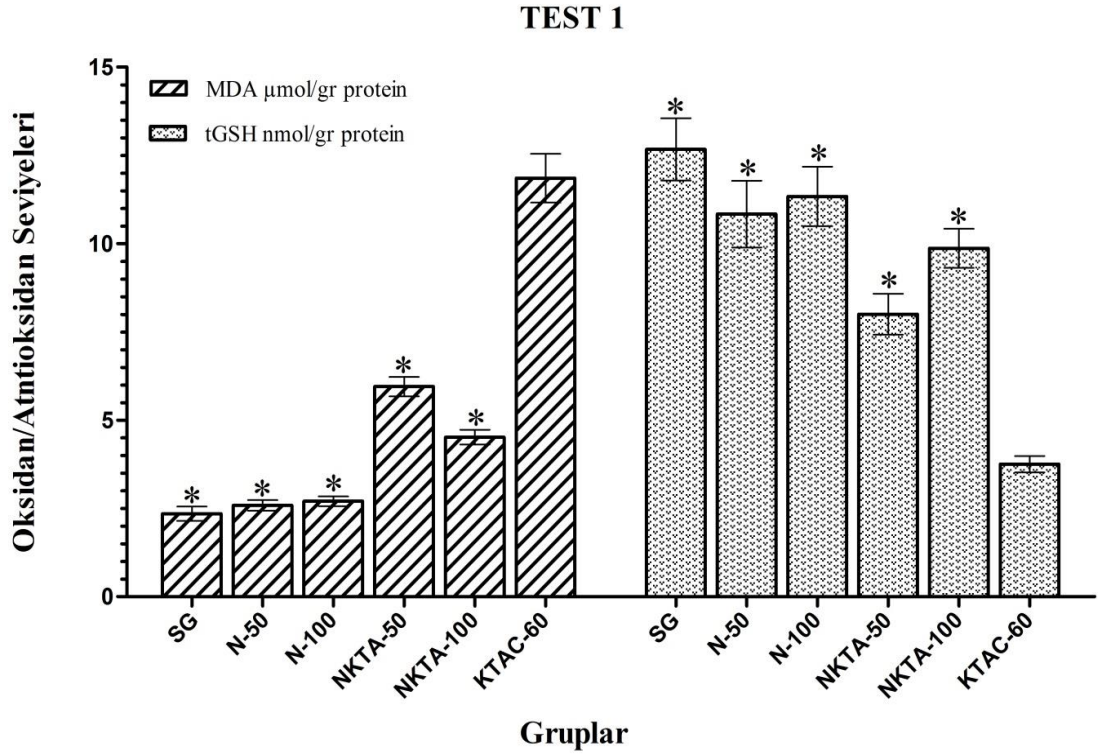
4.1.1. Test I: MDA ve tGSH Analiz Sonuçları

Tablo 4.1'den görüldüğü gibi, SG, N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 ve KTAC-60 sıçan gruplarının kalp dokusunda MDA miktarı sırası ile 2.18 ± 0.13 ($P < 0.0001$), 2.58 ± 0.14 ($P < 0.0001$), 2.70 ± 0.14 ($P < 0.0001$), 5.95 ± 0.27 ($P < 0.0001$), 4.51 ± 0.21 ve 11.85 ± 0.69 ($P < 0.0001$) $\mu\text{mol/gr}$ protein olurken, tGSH miktarı 12.66 ± 0.88 ($P < 0.0001$), 10.83 ± 0.94 ($P < 0.0001$), 11.33 ± 0.84 ($P < 0.0001$), 8 ± 0.57 ($P < 0.0001$), 9.86 ± 0.55 ($P < 0.0001$), 3.75 ± 0.22 $\mu\text{mol/gr}$ protein olarak belirlenmiştir (Şekil 4.1).

Tablo 4.1. Sıçan kalp dokusu ve kan örneklerinde N-50 (50 mg/kg nimesulid), N-100 (100 mg/kg nimesulid), NKTA-50 (50 mg/kg nimesulid+60 mg/kg ketamin), NKTA-100 (100 mg/kg nimesulid+60 mg/kg ketamin), KTAC-60 (60 mg/kg ketamin) ve SG (sağlıklı grup) gruplarında MDA, tGSH, 8-OHGua, CK-MB, TP I ve ADR düzeyleri.

GRUPLAR	MDA ($\mu\text{mol/gr}$ protein)	tGSH (nmol/gr protein)	8-OHGua (pmol/l)	CK-MB (ng/ml)	TP I ($\mu\text{g/l}$)	ADR (ng/l)
SG	2.18 ± 0.13	12.66 ± 0.88	0.20 ± 0.01	119.50 ± 1.47	0.11 ± 0.006	8715.33 ± 92.32
P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
N-50	2.58 ± 0.14	10.83 ± 0.94	0.22 ± 0.01	127.33 ± 2.24	0.15 ± 0.01	5618.16 ± 60.30
P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
N-100	2.70 ± 0.14	11.33 ± 0.84	0.25 ± 0.01	124 ± 3.36	0.13 ± 0.12	3702.83 ± 50.03
P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
NKTA-50	5.95 ± 0.27	8 ± 0.57	0.40 ± 0.01	157 ± 2.30	0.19 ± 0.01	10252.50 ± 93.64
P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
NKTA-100	4.51 ± 0.21	9.86 ± 0.55	0.30 ± 0.01	125.16 ± 2.67	0.17 ± 0.01	8156.66 ± 69.41
P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
KTAC-60	11.85 ± 0.69	3.75 ± 0.22	0.62 ± 0.02	254 ± 3.30	0.44 ± 0.02	13747 ± 47.84
P	-	-	-	-	-	-

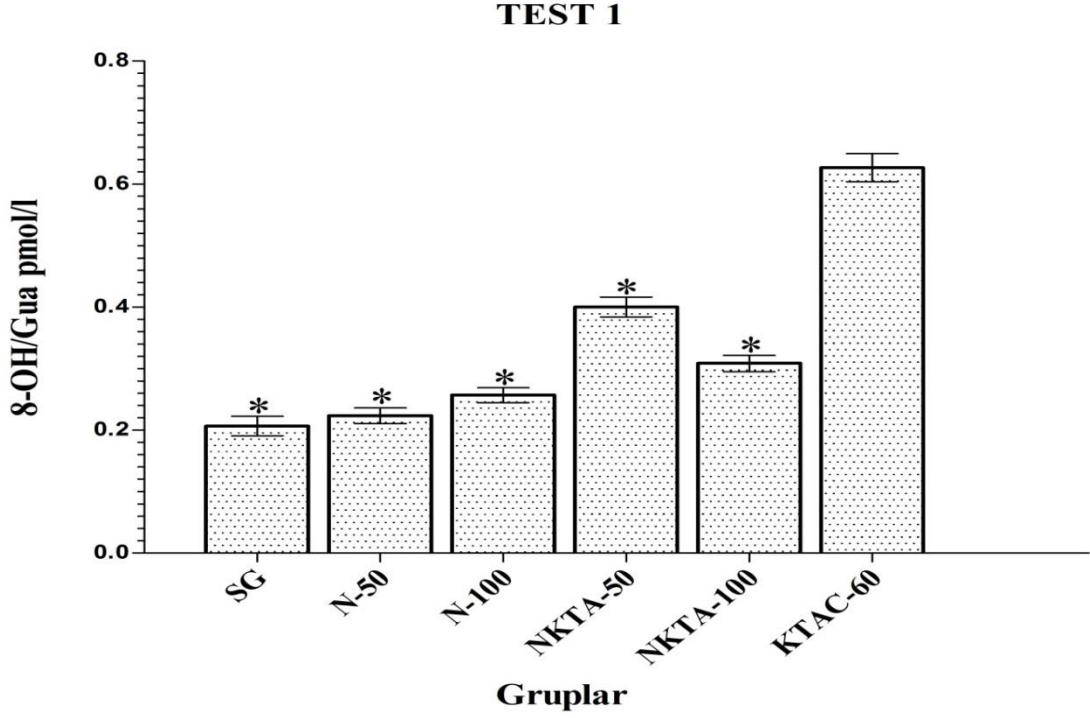
Gruplar KTAC-60 grubu ile karşılaştırıldı ve $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak belirtildi. (N=6).



Şekil 4.1. Sıçan kalp dokusunda N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 KTAC-60 ve SG gruplarından alınan kanlarda MDA ve tGSH düzeyleri. Gruplar KTAC-60 grubu ile karşılaştırıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. * $p<0.0001$ değerini ifade etmektedir. (N=6).

4.1.2. Test I: DNA Oksidasyon Analiz Sonuçları

DNA oksidasyon ürünü olan 8-OH/Gua miktarı sağlıklı grubun kalp dokusunda 0.20 ± 0.01 ($P<0.0001$) pmol/l iken, N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 ve KTAC-60 sıçan gruplarının kalp dokusunda sırası ile 0.22 ± 0.01 ($P<0.0001$), 0.25 ± 0.01 ($P<0.0001$), 0.40 ± 0.01 ($P<0.0001$), 0.30 ± 0.01 ($P<0.0001$) ve 0.62 ± 0.02 pmol/l olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.1, Şekil 4.2).



Şekil 4.2 N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 KTAC-60 ve SG gruplarından alınan kanlarda 8-OHGua düzeyleri.

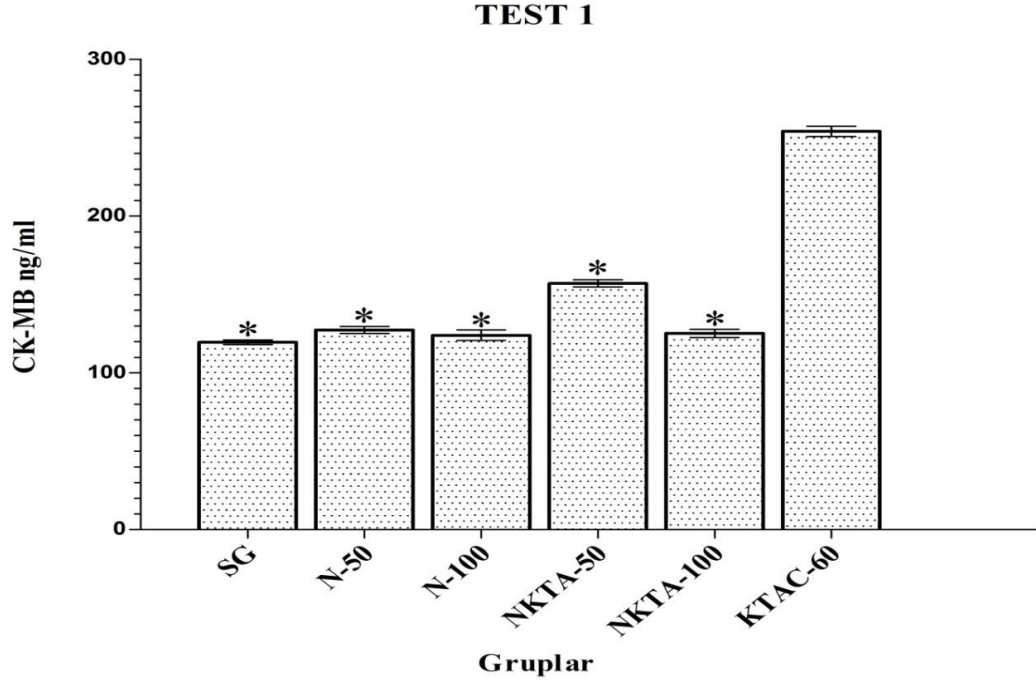
Gruplar KTAC-60 grubu ile karşılaştırıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi.

* $p < 0.0001$ değerini ifade etmektedir. (N=6).

4.1.3. Test I: CK-MB ve TP I Analiz Sonuçları

Hayvanların kuyruk venlerinden alınan kan örneklerinde CK-MB seviyesi SG, N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 ve KTAC-60 gruplarında sırası ile 119.50 ± 1.47 ($P < 0.0001$), 127.33 ± 2.24 ($P < 0.0001$), 124 ± 3.36 , 157 ± 2.30 ($P < 0.0001$), 125.16 ± 2.67 ($P < 0.0001$) ve 254 ± 3.30 ng/ml olmuştur (Tablo 4.1, Şekil 4.3).

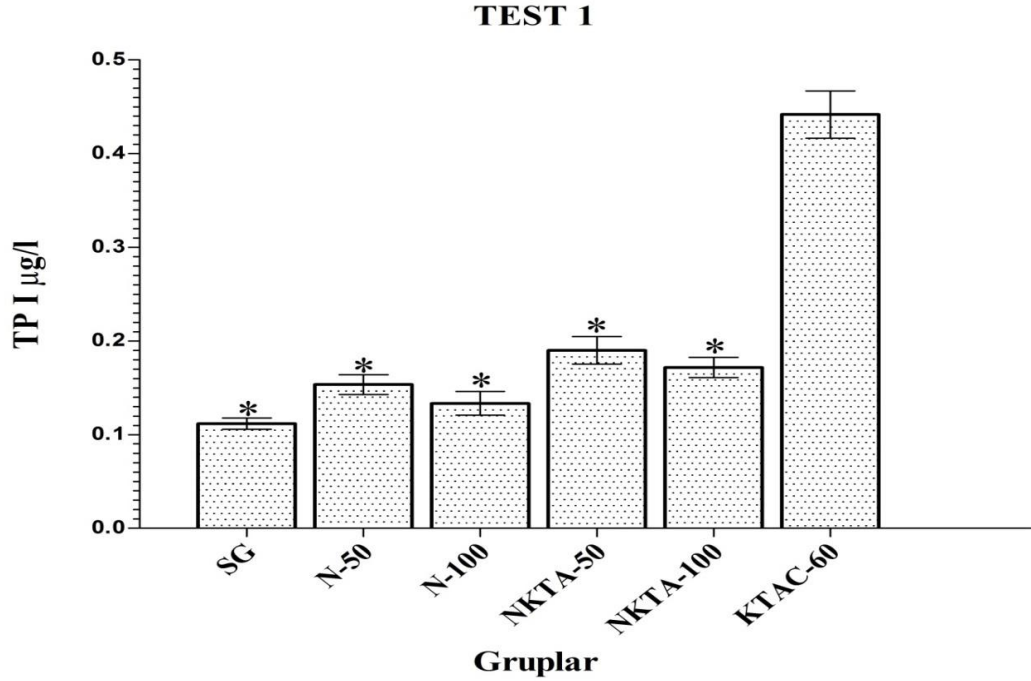
Yine bu grup hayvanların kan örneklerinde TP I miktarı ölçülmüş ve sırası ile 0.11 ± 0.006 ($P < 0.0001$), 0.15 ± 0.01 ($P < 0.0001$), 0.13 ± 0.12 ($P < 0.0001$), 0.19 ± 0.01 ($P < 0.0001$), 0.17 ± 0.01 ($P < 0.0001$) ve 0.44 ± 0.02 μ /l olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.1, Şekil 4.4).



Şekil 4.3. N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 KTAC-60 ve SG gruplarından alınan kanlarda CK-MB düzeyleri

Gruplar KTAC-60 grubu ile karşılaştırıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi.

* $p < 0.0001$ değerini ifade etmektedir. (N=6).



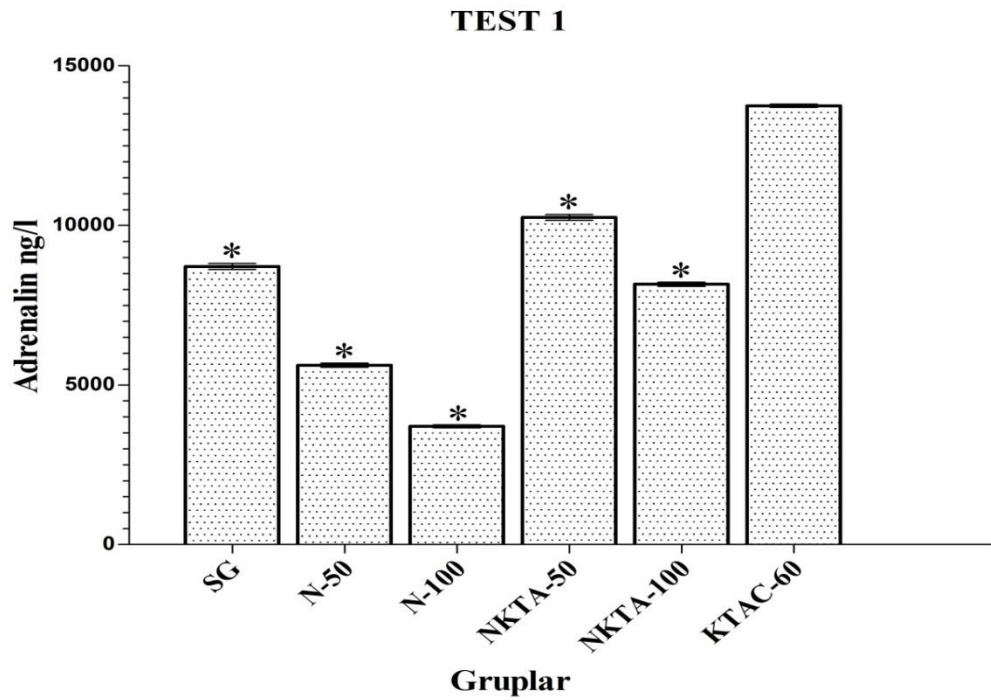
Şekil 4.4. N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 KTAC-60 ve SG gruplarından alınan kan örneklerinde TP I düzeyleri.

Gruplar KTAC-60 grubu ile karşılaştırıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi.

* $p < 0.0001$ değerini ifade etmektedir. (N=6).

4.1.4. Test I: ADR Analiz Sonuçları

Tablo 4.1 den anlaşılabacağı gibi, nimesulid kan ADR miktarını azaltmıştır. SG, N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 ve KTAC-60 sıçan gruplarından alınan kan örneklerinde ADR miktarı 8715.33 ± 92.32 ($P < 0.0001$), 5618.16 ± 60.30 ($P < 0.0001$), 3702.83 ± 50.03 ($P < 0.0001$), 10252.50 ± 93.64 ($P < 0.0001$), 8156.66 ± 69.41 ($P < 0.0001$), ve 13747 ± 47.84 ng/l olarak ölçülmüştür (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 KTAC-60 ve SG gruplarından alınan kan örneklerinde ADR düzeyleri

Gruplar KTAC-60 grubu ile karşılaştırıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi.

* $p < 0.0001$ değerini ifade etmektedir. (N=6).

4.1.5. Test II: Nimesulidin, Ketaminin Anestezi Süresine Etkisi ve ADR

Analiz Sonuçları

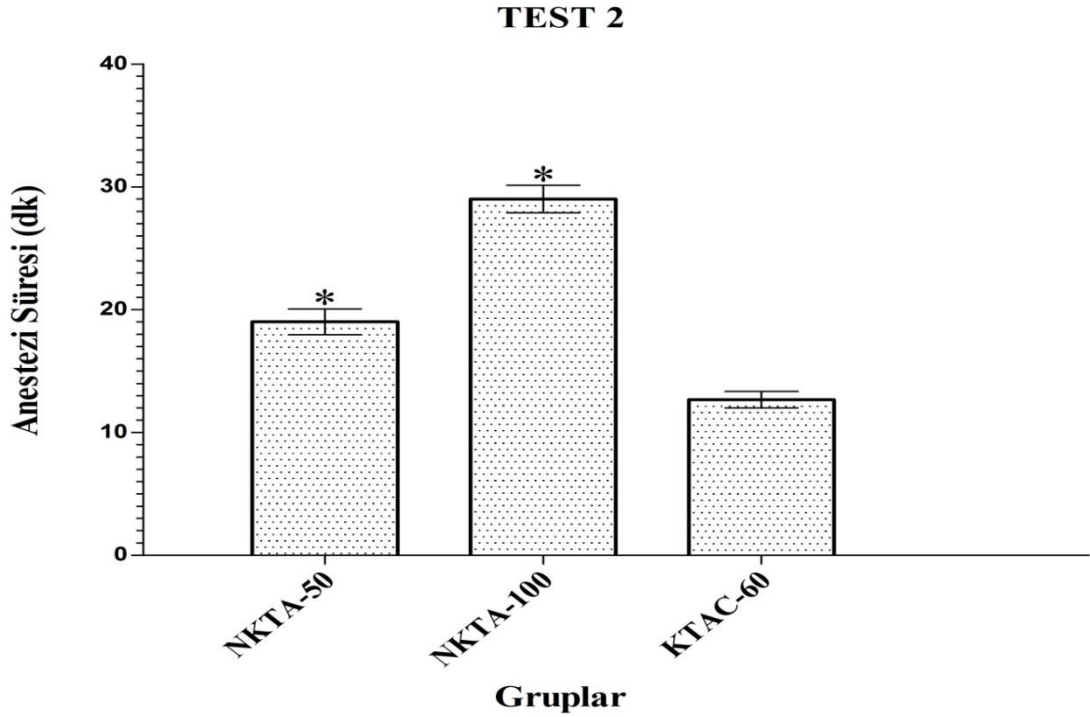
Tek başına 60 mg/kg dozda ketamin uygulanan KTAC-60 sıçan grubunda anestezi süresinin ortalaması 12.6 ± 0.66 dakika iken, NKTA-50 ve NKTA-100 grubunda bu süre 19.0 ± 1.06 ($P < 0.001$) ve 29.0 ± 1.12 ($P < 0.0001$) dakikaya yükselmiştir (Tablo 4.2, Şekil 4.6). NKTA-50 NKTA-100 ve KTAC-60 grubunun kan örneklerinde ölçülen

ADR miktarı sırası ile 9124.3 ± 31.63 ($P < 0.0001$), 7586.5 ± 55.25 ($P < 0.0001$), 12155 ± 76.69 ng/l olmuştur (Tablo 4.2, Şekil 4.7).

Tablo 4.2. NKTA-50 (50 mg/kg nimesulid+60 mg/kg ketamin), NKTA-100 (100 mg/kg nimesulid+60 mg/kg ketamin) ve KTAC-60 (60 mg/kg ketamin) gruplarında Anestezi süresi ve ADR düzeyleri.

GRUPLAR	Anestezi (dakika)	P	ADR (ng/l)	P
NKTA-50	19 ± 1.06	< 0.001	9124.3 ± 31.63	< 0.0001
NKTA-100	29 ± 1.12	< 0.0001	7586.5 ± 55.25	< 0.0001
KTAC-60	12.6 ± 0.66	-	12155 ± 76.69	-

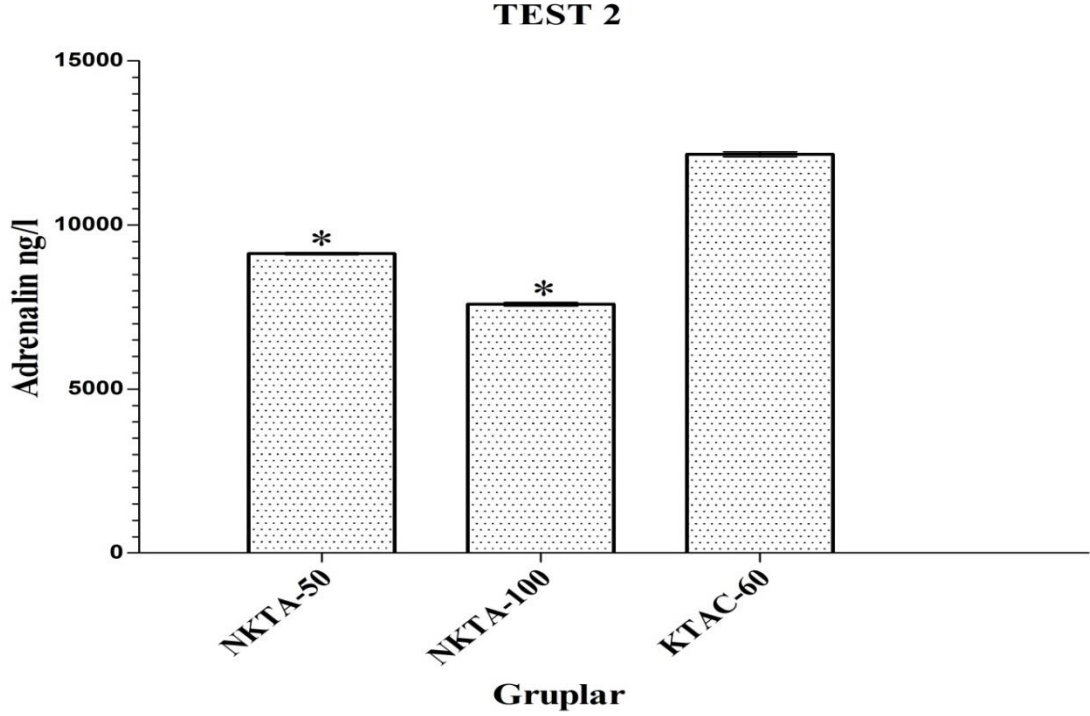
Gruplar KTAC-60 grubu ile karşılaştırıldı ve $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak belirtildi. (N=6).



Şekil 4.6. Ketamin uygulanan NKTA-50, NKTA-100 ve KTAC-60 gruplarında Anestezi süreleri

Gruplar KTAC-60 grubu ile karşılaştırıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi.

* $p < 0.0001$ değerini ifade etmektedir. (N=6).



Şekil 4.7. NKTA-50, NKTA-100 ve KTAC-60 gruplarından alınan kan örneklerinde ADR düzeyleri

Gruplar KTAC-60 grubu ile karşılaştırıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi.

* $p < 0.0001$ değerini ifade etmektedir. (N=6).

4.1.6. Test III: Nimesulidin Ketaminin Analjezik Aktivitesine Etkisi ve ADR

Analiz Sonuçları

Tablo 4.3'te nimesulid, ketamin ve nimesulid ile ketamin kombinasyonu uygulanmadan ve uygulandıktan sonraki sıçan pençe ağrı eşiğine etkisi gösterilmiştir. Deney sonuçları N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 ve KTAC-30 hayvan gruplarında analjezik aktivitenin sırası ile % 38.2 ($P < 0.05$), % 52.8 ($P < 0.01$), % 76.2 ($P < 0.0001$), % 83.4 ($P < 0.0001$) ve % 68.8 ($P < 0.001$) olduğunu göstermiştir. Ancak, tek başına nimesulid verilen N-50 ve N-100 gruplarındaki analjezik aktivite, KTAC-30 ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Fakat nimesulid ketamin kombinasyonunun (NKTA-50, NKTA-100) oluşturduğu analjezik aktivite, tek başına ketamin uygulanan KTAC-30 grubuna göre daha anlamlı olmuştur. Ayrıca Şekil 4.8 de, ilaçlardan önce ve ilaçlardan sonraki ağrı eşiği değerleri arasındaki fark gösterilmiştir.

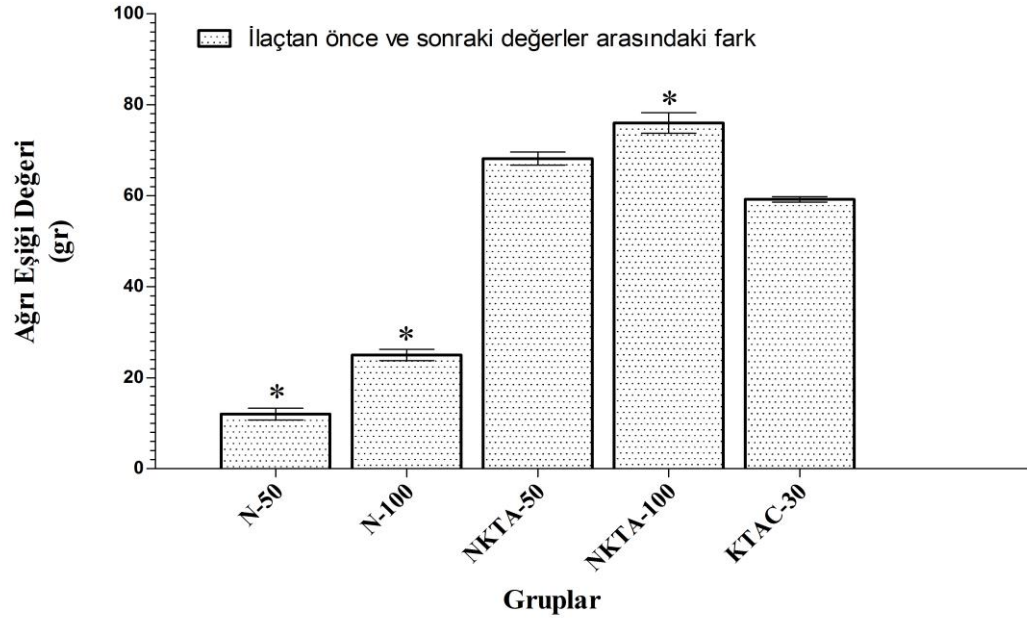
Analjezik aktivitesinin değerlendirildiği N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 ve KTAC-30 grubu sıçanların kan örneklerinde ADR miktarı sırası ile 5270.3±54.3 (P<0.0001), 3331.6±69.4 (P<0.0001), 1126.3±49.3 (P<0.0001), 9694.6±148.0 (P<0.0001) ve 14623.7±73.8 ng/l olduğu saptanmıştır (Şekil 4.9).

Tablo 4.3. N-50 (50 mg/kg nimesulid), N-100 (100 mg/kg nimesulid), NKTA-50 (50 mg/kg nimesulid+30 mg/kg ketamin), NKTA-100 (100 mg/kg nimesulid+30 mg/kg ketamin) ve KTAC-30 (30 mg/kg ketamin) gruplarında Ağrı eşiği değerleri, Analjezik aktivite ve ADR düzeyleri.

GRUPLAR	Ağrı Eşiği Değeri (gr)			Analjezi (%)	ADR (ng/l)
	İlaçlardan Önce	İlaçlardan Sonra	İlaçtan önce ve sonraki değerler arasındaki fark		
N-50	19.5±0.84	31.1± 0.87	12.0±1.29	38.2	5270.3±54.3
P			<0.0001	<0.0001	<0.0001
N-100	22.8±0.94	47.1±1.42	25.0±1.23	52.8	3331.6±69.4
P			<0.0001	<0.0001	<0.0001
NKTA-50	21.3±1.05	89.3±1.47	66.6±2.76	76.2	11260.3±49.3
P			<0.0001	<0.0001	<0.0001
NKTA-100	14.8±1.07	91.0±1.87	76.0±2.29	83.4	9694.6±148.0
P			<0.0001	<0.0001	<0.0001
KTAC-30	26.6±0.88	86.1±1.16	59.2±0.60	68.8	14623.6±73.8
P	-	-	-	-	-

Gruplar KTAC-30 grubu ile karşılaştırıldı ve p<0.05 değeri anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak belirtildi. (N=6).

TEST 3

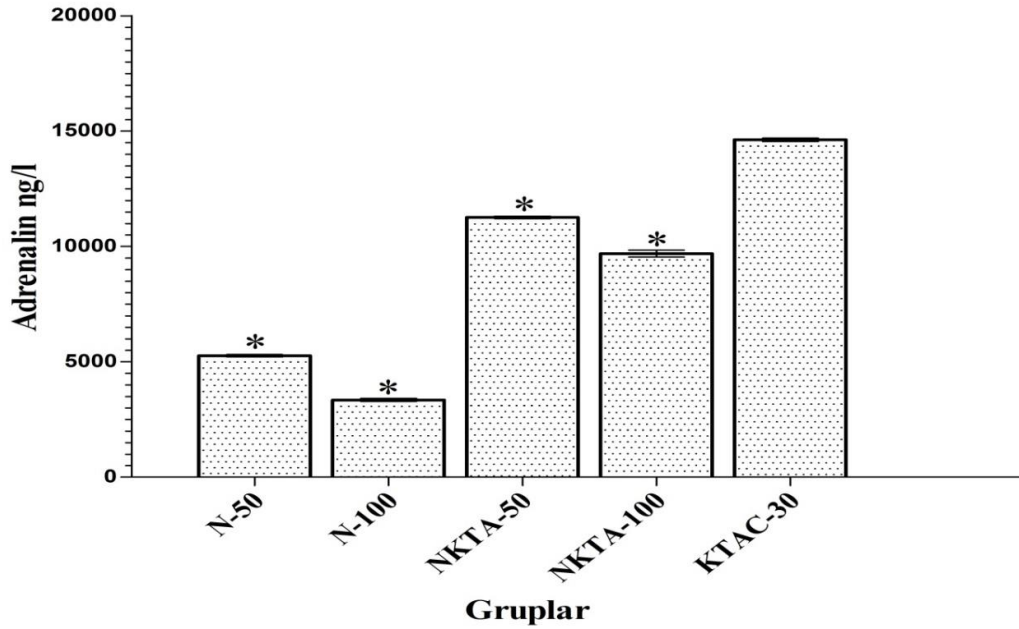


Şekil 4.8. N-50, N-100, NKTA-50, NKTA-100 ve KTAC-30 gruplarında ilaçlardan önce ve ilaçlardan sonraki ağrı eşiği değerleri arasındaki fark

Gruplar KTAC-30 grubu ile karşılaştırıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi.

* $p < 0.0001$ değerini ifade etmektedir. (N=6).

TEST 3



Şekil 4.9. N-50, N-100 ve NKTA-50, NKTA-100 ve KTAC-30 gruplarından alınan kan örneklerinde ADR düzeyleri

Gruplar KTAC-30 grubu ile karşılaştırıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi.

* $p < 0.0001$ değerini ifade etmektedir. (N=6).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, nimesulidin ketamin uygulanan sıçanlarda gelişen kardiyotoksositeye ve anestezi süresine etkisi araştırıldı. Ayrıca, ketaminin analjezik aktivitesinin nimesulidle etkilenip etkilenmediği incelendi. Yukarıda belirtildiği gibi, ketamin sempatomimetik aktivite ile oksidatif kalp hasarına yol açmaktadır.^{4, 7} Sempatomimetik aktivite katekolaminlerin aşırı üretiminden kaynaklandığı bilinmektedir. Deney sonuçlarımızdan da, anlaşıldığı gibi endojen bir katekolamin olan ADR miktarı yüksek bulunan KTC-60 grubunda, MDA miktarıda yüksek bulunmuştur. Aksoy M ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada da ketaminin doza bağımlı olarak endojen ADR düzeyini anlamlı yükselttiği rapor edilmiştir.⁶ Ahıskalıoğlu A ve arkadaşlarıda çalışmalarında 60 mg/kg dozda ketamin uygulanan hayvanların kalp dokusunda oksidan bir parametre olan MDA'nın yükseldiğini, GSH ve SOD gibi enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan parametrelerin ise azaldığını bildirmişlerdir.¹²⁶ Bilindiği gibi, MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Dokularda MDA seviyesinin artması serbest oksijen radikallerinin arttığını gösterir. Serbest radikallerin hücrede başlattığı en zararlı etkileri lipid peroksidasyonudur.¹²⁷ MDA ise hücrelerde daha ileri yıkımlara sebep olmaktadır.¹²⁸ KTC-60 grubunun kalp dokusunda MDA miktarının N-50, N-100, NKT-50, NKT-100 ve SG'ye göre yüksek, tGSH'nin ise düşük bulunması, KTC-60 grubunda oksidan/antioksidan dengenin oksidanların lehine değiştiğini göstermektedir. Fizyolojik şartlarda oksidan/antioksidan dengenin antioksidanların üstünlüğüyle sürdürüldüğü bilinmektedir.¹²⁹ Bu dengenin oksidanların lehine değişmesi doku hasarına yol açar. Bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır.¹³⁰ Yani, doku hasarının oluşup oluşmadığı oksidan/antioksidan denge ile değerlendirilmektedir.¹³¹ Literatür bilgileri ve deney sonuçlarımız KTC-60 grubunun

kalp dokusunda oksidatif stresin geliştiğini ve oksidatif stresin ADR miktarının artması ile ilişkili olabileceğini belirtmektedir.

Çalışmamızda SG ve nimesulid uygulanan sıçan gruplarının kalp dokusunda MDA miktarı KTC-60 grubununkine göre anlamlı düşük, tGSH miktarı ise anlamlı yüksek bulunmuştur. Ayrıca, MDA'nın düşük, tGSH'nin yüksek bulunduğu N-50, N-100, NKT-50, NKT-100 ve SG sıçan gruplarının kan örneklerinde ADR miktarı KTC-60 grubununkine göre de düşük olduğu saptanmıştır. Bu da, antioksidan aktivitenin ADR azalmasına paralel bir şekilde yükseldiğini ifade etmektedir. Bundan önce yapılan çalışmalarda da nimesulidin hayvanlarda endojen adrenalin miktarını azalttığı bildirilmiştir.¹³ Yine son zamanlarda yapılan bir başka çalışmada ADR üretimini %35-80 oranında inhibe eden metyrosinin¹³² ketaminin yol açtığı oksidatif kalp hasarını önlediği rapor edilmiştir.¹²⁶ Edinilen bu bilgiler, ketaminin kardiyotoksik etkisinin azaltılmasında, ketaminle aşırı artan endojen katekolamin üretiminin baskılanması ve ayrıca antioksidan tedavinin yararlı olabileceğini gösterir. Nimesulidin, ADR üretimini inhibe etmesinin yanı sıra belirgin antioksidan aktivitesinin de olduğu bilinmektedir. Nimesulidin hasarlı dokularda oksidan/antioksidan dengeyi antioksidanların lehine değiştirerek protektif etki oluşturduğu savunulmuştur.^{14, 15} Özetle, ketaminin kalp dokusunda hasar oluşturmaları ve nimesulidin bu hasar üzerinde protektif etkisinin olması literatür bilgileri ile örtüşmektedir.

Çalışmamızda ayrıca, ketamin kalp dokusunda DNA oksidasyon ürünü olan 8-OH/Gua'nın artmasına neden olmuştur. Literatürlerde 8-OH/Gua oksidatif stres markeri olarak değerlendirmektedir.¹⁰¹ Oksidatif hasara bağlı olarak DNA'da, tek ve çift dal kırıkları, abazik alanlar, baz modifikasyonları hasarı meydana gelebilmektedir.¹³³ Toksik oksijen radikallerinden biri olan •OH, DNA üzerine etkili olabilmesi için DNA'da veya çok yakınında oluşması gerekmektedir. Reaktivitesi çok yüksek olan •OH

radikalinin hücre içinde diffüze olarak nükleusa geçme olasılıkları azdır. Olası mekanizma aşağıda gösterildiği gibi membranı kolayca geçebilen H₂O₂'nin nükleusta Fe-Cu iyonları ile reaksiyona girerek hidroksil radikallerini oluşturmasıdır.¹³⁴ Bu da ketamin verilen sıçanların kalp doku hücre ve hücre çekirdeğinde oksidatif stresin meydana geldiğini düşündürmektedir.

Yine bu çalışmamızda ADR miktarı yüksek bulunan ketamin grubunda CK-MB ve TP I seviyeleri de yüksek bulunmuştur. Klinikte CK-MB ve troponinler kalp myokard hasarının tanısında kullanılan önemli parametrelerdendir.¹³⁵ Polat B ve arkadaşları çalışmalarında kalp dokusunda MDA ve 8-OH/Gua miktarı yüksek bulunan sıçanların serum CK-MB ve TP I düzeylerinde yüksek olduğunu bildirmişlerdir.¹³⁶ Serumda CK-MB nin yükselmesinin myokard hasarı ile bağlantılı olduğuda ifade edilmiştir.¹³⁷ Başka bir çalışmada lipid peroksidasyonunun indüklenmesinin serumda CK-MB artmasına neden olduğu savunulmuştur.^{138,139} Literatürlerde serum TP I düzeyinde, oksidan parametrelerin yükselişine orantılı bir şekilde yükseldiği rapor edilmiştir.¹² Araştırmalar, CK-MB ve TP I in yükselmesinin reaktif oksijen ürünlerinin, myokard membranında oluşturduğu bozukluktan kaynaklanabileceğini öne sürmüşlerdir.^{140, 141} Ahiskalıoğlu A ve arkadaşları ratlar üzerinde yaptıkları deneysel çalışmalarında ketaminin oksidatif kalp hasarına yol açtığını ve serum CK-MB ve TP I düzeylerini belirgin yükselttiğini açıklamışlardır.¹²⁶ Nimesulidin MDA, 8-OH/Gua, CK-MB ve TP I miktarlarını düşürmesi ve tGSH miktarını yükseltmesi kalp dokusunu ketaminle artan ADR nin oksidatif hasarından koruduğunu gösterir. Gongadze NV ve Kezeli TD, ADR uygulanan hayvanların kalp dokusunda oksidatif stresin oluştuğunu ve zafirlukastla bu hasarın azaltılabileceğini savunmuşlardır.¹⁴²

Son yıllarda Aksoy M ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda, metyrosin ile endojen ADR üretimi azaltılmış sıçanlarda ketaminin daha ufak dozlarda bile

anestezi oluşturduğu ve anestezi süresinin anlamlı uzadığı gösterilmiştir. Yazarlar ayrıca çalışmalarında adrenalektomi ile ADR üretimi tamamen baskılanmış sıçanlarda ketamin anestezi süresinin daha da uzadığını ortaya koymuşlardır.⁶ Bu bilgiler, endojen ADR miktarını azaltabilen her türlü ilaç ve maddelerin ketamin anestezi süresini artıracaklarını düşündürmektedir. Bu amaçla seçilen nimesulidin ketamin anestezi süresine etkisi araştırılmıştır. Nimesulid 100 mg/kg dozda endojen ADR miktarını 50 mg/kg dozuna göre daha anlamlı azaltmıştır ve nimesulid 100 mg/kg dozda ketamin anestezi süresini 50 mg/kg dozuna göre daha anlamlı uzaltmıştır.

Bundan önce yapılan çalışmada adrenalektomili sıçanlarda tiopental sodyumun etki süresinin intakt sıçanlara göre birkaç kat daha arttığı gösterilmiştir.¹⁴³ Bilindiği gibi, noradrenalin ve dopamin santral sinir sisteminde ve adrenal medulada üretilirken, adrenalın memeli canlılarda sadece adrenal medullada üretilir. Bu nedenle vücutta adrenalın sentezi adrenalektomi ile sona erdirilebilir, ancak noradrenalin ve dopamin sentezi adrenalektomi ile sonlandırılmaz.^{144, 145} Aksoy M ve arkadaşları, adrenalektomili sıçanlarda ADR düzeyinin tamamen kaybolduğunu, noradrenalin ve dopaminin ise sağlıklı intakt hayvanlara göre anlamlı yükseldiğini kaydetmişlerdir. Ayrıca yazarlar, noradrenalin ve dopamin düzeylerinin daha yüksek bulunduğu adrenalektomili hayvanlarda ketamin anestezi süresinin intakt hayvanlardakine göre daha uzun olduğunu rapor etmişlerdir.⁶ Literatür ve deney sonuçlarımızdan edinilen bilgilerden, ketamin anestezi süresinin uzatılmasında noradrenalin ve dopaminin rolünün olmadığı anlaşılmaktadır.

Nimesulid ve ketaminin analjezik etkilerinin olduğu bilinmektedir.^{1, 52} Çalışmamızda ketaminin analjezik aktivitesinin nimesulidle etkilenip etkilenmediği araştırıldı. Deney sonuçları, ketaminin 30 mg/kg dozda, nimesulidin ise 50 ve 100 mg/kg dozlarda tek başlarına anlamlı analjezik etki oluşturduklarını göstermiştir.

Ayrıca, nimesulidin 50 ve 100 mg/kg dozlarda ketaminle kombine kullanıldığında ortaya çıkan analjezik aktivitenin, bu ilaçların her birinin ayrı ayrı kullanılmasıyla ortaya çıkan analjezik aktiviteden daha fazla olduğu anlaşılmıştır. Yine, nimesulid ve ketaminin birlikte kullanılmasıyla ortaya çıkan analjezik aktivitenin toplamı, bu ilaçların ayrı ayrı kullanılmasıyla ortaya çıkan analjezik aktivitenin toplamından daha düşük olmuştur. Bu da nimesulidin ketaminin analjezik aktivitesini artırmadığını göstermektedir. Aksine, nimesulidin ADR miktarını düşürmesi, ketaminin analjezik aktivitesinde kısmen azalmaya yol açmış olabilir. Ketaminin analjezik aktivitesinin tamamen kaybolmaması, ketaminin farklı mekanizmalarla analjezi oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Bu mekanizmalardan biri, ketaminin n-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri üzerindeki antagonist etki oluşturmalarıdır.¹⁷ Ketamin, NMDA reseptörlerinin dışında mü, delta ve kappa opiyat reseptörleri ile de etkileşmektedir.¹⁴⁶ Ketaminin analjezik etkisi muhtemelen opiyat reseptörleri ile etkileşmesine de bağlı olarak ortaya çıkmaktadır.³⁰ Ketamin analjezik etkisini opioid reseptörleri ile inen monoaminerjik ağrı kontrol yollarında alfa-2 adrenerjik reseptörleri aktive ederek de oluşturmaktadır.¹⁴⁷ Vane J ve Botting R çalışmalarında adrenalinin analjezik etkisinin olduğunu savunmuşlardır.¹⁴⁸ Yine, Mccord JM ve arkadaşları tarafından intratekal olarak uygulanan adrenalinin analjezik etki oluşturduğu bildirilmiştir.¹⁴⁹ Ayrıca, α -2 adrenerjik reseptörlerin aktivasyonunun güçlü bir analjezik etki oluşturduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır.¹⁵⁰ Yine bir başka çalışmada, α -2 adrenerjik reseptörlerin spinal analjeziyi düzenlediğini ve adrenerjik ve opioid sistem arasında bir sinerji olduğunu iddia edilmiştir.¹⁵¹ Bu literatür bilgileri, ketaminin analjezik etkisinin ADR miktar artışından kaynaklanmış olabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca, nimesulidin ADR miktarını azaltması, ketamin kombinasyonu ile oluşan analjezik aktivitenin aditif ve potansiyalizasyon sinerjizma şekillerine benzememesinin nedeni olabilir.

Nimesulidin de analjezik etki mekanizmasının multifaktöryel olduğu bilinmektedir.¹⁵²

Nimesulidin analjezik etki mekanizmasında COX-2 enzim inhibisyonuyla aljezik prostaglandinlerin üretiminin baskılanması önemli rol oynamaktadır.¹⁵³ Ayrıca, nimesulidin analjezik etki mekanizmasında aktive nötrofillerden oksidan, doku mast hücrelerinden histamin salınımının azaltılması ve metaloproteinaz aktivitesinin inhibisyonu gibi bir çok faktör yer almaktadır.¹⁵³



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ketamin 60 mg/kg dozda kalp dokusunda oksidatif strese yol açmış ve ketamin kan ADR miktarını anlamlı şekilde yükseltmiştir. Ketaminin yol açtığı oksidatif kalp hasarı kan ADR miktar artışı ile bağlantılı olabilir. Nimesulid kan ADR miktarını anlamlı şekilde düşürmüştür. Nimesulidin ketaminle indüklenen oksidatif kalp hasarı üzerindeki koruyucu etkisi, ADR düzeyini azaltmasına bağlı olabilir. Nimesulid ketamin anestezi süresini ADR miktarını azaltarak uzatmıştır. Ketaminin anestezi süresinin uzatılmasında endojen adrenalin miktarının belli bir düzeye kadar baskılanmasının gerektiği öğrenilmiştir. Nimesulid ketamin kombinasyonu, bu ilaçların ayrı ayrı kullanılmasıyla ortaya çıkan analjezik etkiden daha güçlü analjezik etki oluşturmuştur.

Bu bilgiler klinikte nimesulidin ketamin kardiyotoksitesini önlemek için ketaminle birlikte kullanılabileceğini gösterir. Ayrıca, nimesulid ile ketamin kombinasyonu daha güçlü analjezik aktivite sağlayarak ketaminin uzun süreli cerrahi girişimlerde de kullanımını mümkün kılabilir.

KAYNAKLAR

1. Craven R. Ketamine. *Anaesthesia*, 2007, 62 Suppl 1: 48-53.
2. Reich DL, Silvey G. Ketamine: an update on the first twenty-five years of clinical experience. *Canadian Journal of Anesthesia*, 1989, 36: 186-197.
3. Kohrs R, Durieux ME. Ketamine: teaching an old drug new tricks. *Anesthesia & Analgesia*, 1998, 87: 1186-1193.
4. Morgan EG, Mikhail SM, Murray JM. Clinical Anesthesiology, 3th ed. Lange Medical Books, McGraw-Hill/Appleton & Lange, 2001: 139-145
5. White JM, Ryan CF. Pharmacological properties of ketamine. *Drug and Alcohol Review*, 1996, 15: 145-155.
6. Aksoy M, Ince I, Ahiskalioglu A, Dostbil A, Celik M, Turan MI, Cetin N, Suleyman B, Alp HH, Suleyman H. The suppression of endogenous adrenalin in the prolongation of ketamine anesthesia. *Medical Hypotheses*, 2014, 83: 103-107.
7. Hašková P, Koubková L, Vávrová A, Macková E, Hrušková K, Kovaříková P, Vávrová K, Simůnek T. Comparison of various iron chelators used in clinical practice as protecting agents against catecholamine-induced oxidative injury and cardiotoxicity. *Toxicology*, 2011, 289: 122-131.
8. Bhagat B, Sullivan JM, Fischer VW, Nadel EM, Dhalla NS. cAMP activity and isoproterenol-induced myocardial injury in rats. *Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism*, 1976, 12: 465-470.
9. Fleckenstein A, Janke J, Döring HJ, Leder O. Myocardial fiber necrosis due to intracellular Ca overload-a new principle in cardiac pathophysiology. *Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism*, 1974, 4: 563-580.
10. Banerjee SK, Sood S, Dinda AK, Das TK, Maulik SK. Chronic oral administration of raw garlic protects against isoproterenol-induced myocardial necrosis in rat.

Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2003, 136: 377-386.

11. Kumari SS, Menon VP. Changes in levels of lipid peroxides and activities of superoxide dismutase and catalase in isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 1987, 25: 419-423.
12. Coskun R, Turan MI, Turan IS, Gulapoglu M. The protective effect of thiamine pyrophosphate, but not thiamine, against cardiotoxicity induced with cisplatin in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 2014, 37: 290-294.
13. Suleyman H, Halici Z, Cadirci E, Hacimuftuoglu A, Keles S, Gocer F. Indirect role of alpha2-adrenoreceptors in anti-ulcer effect mechanism of nimesulide in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2007, 375: 189-198.
14. Demiryilmaz I, Turan MI, Kisaoglu A, Gulapoglu M, Yilmaz I, Suleyman H. Protective effect of nimesulide against hepatic ischemia/reperfusion injury in rats: effects on oxidant/antioxidants, DNA mutation and COX-1/COX-2 levels. *Pharmacological Reports*, 2014, 66: 647-652.
15. Isaoglu U, Yilmaz M, Sener E, Cetin N, Altuner D, Bilen H, Yapca OE, Demiryilmaz I, Isaoglu I, Gul MA. The Impaired Balances of Oxidant/Antioxidant and COX-1/COX-2 in Ovarian Ischemia-Reperfusion Injury and Prevention by Nimesulide. *Latin American Journal of Pharmacy*, 2012, 31: 1481-1488.
16. Tso MM, Blatchford KL, Callado LF, McLaughlin DP, Stamford JA. Stereoselective effects of ketamine on dopamine, serotonin and noradrenaline release and uptake in rat brain slices. *Neurochemistry International*, 2004, 44: 1-7.
17. Hirota K, Lambert DG. Ketamine: its mechanism(s) of action and unusual clinical uses. *British Journal of Anesthesia*, 1996, 77: 441-444.

18. Moore KA, Sklerov J, Levine B, Jacobs AJ. Urine concentrations of ketamine and norketamine following illegal consumption. *Journal of Anal Toxicology*, 2001, 25: 583-588.
19. United States Pharmacopoeia Convention, Pharmacopeia US. 25th ed. Philadelphia, United States Pharmacopeial, 2000: 944.
20. Clements JA, Nimmo WS, Grant IS. Bioavailability, pharmacokinetics, and analgesic activity of ketamine in humans. *Journal of Pharmaceutical Science*, 1982, 71: 539-542.
21. Yanagihara Y, Ohtani M, Kariya S, Uchino K, Hiraishi T, Ashizawa N, Aoyama T, Yamamura Y, Yamada Y, Iga T. Plasma concentration profiles of ketamine and norketamine after administration of various ketamine preparations to healthy Japanese volunteers. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 2003, 24: 37-43.
22. Shimoyama M, Shimoyama N, Gorman AL, Elliott KJ, Inturrisi CE. Oral ketamine is antinociceptive in the rat formalin test: role of the metabolite, norketamine. *Pain*, 1999, 81: 85-93.
23. Hijazi Y, Boulieu R. Contribution of CYP3A4, CYP2B6, and CYP2C9 isoforms to N-demethylation of ketamine in human liver microsomes. *Drug Metabolism and Disposition*, 2002, 30: 853-858.
24. Furuhashi-Yonaha A, Iida H, Asano T, Takeda T, Dohi S. Short- and long-term efficacy of oral ketamine in eight chronic-pain patients. *Canadian Journal of Anaesthesia*, 2002, 49: 886-887.
25. Ihmsen H, Geisslinger G, Schuttler J. Stereoselective pharmacokinetics of ketamine: R(-)-ketamine inhibits the elimination of S(+)-ketamine. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2001, 70: 431-438.

26. Edwards SR, Mather LE. Tissue uptake of ketamine and norketamine enantiomers in the rat: indirect evidence for extrahepatic metabolic inversion. *Life Science*, 2001, 69: 2051-2066.
27. Romanelli F, Smith KM, Pomeroy C. Use of club drugs by HIV-seropositive and HIV-seronegative gay and bisexual men. *Topics in HIV Medicine*, 2003, 11: 25-32.
28. Vollenweider FX, Leenders KL, Oye I, Hell D, Angst J. Differential psychopathology and patterns of cerebral glucose utilisation produced by (S)- and (R)-ketamine in healthy volunteers using positron emission tomography (PET). *European Neuropsychopharmacology*, 1997, 7: 25-38.
29. Narita M, Yoshizawa K, Nomura M, Aoki K, Suzuki T. Role of the NMDA receptor subunit in the expression of the discriminative stimulus effect induced by ketamine. *European Journal of Pharmacology*, 2001, 423: 41-46.
30. Finck AD, Ngai SH. Opiate receptor mediation of ketamine analgesia. *Anesthesiology*, 1982, 56: 291-297.
31. Hancock PJ, Stamford JA. Stereospecific effects of ketamine on dopamine efflux and uptake in the rat nucleus accumbens. *British Journal of Anaesthesia*, 1999, 82: 603-608.
32. Vollenweider FX, Vontobel P, Oye I, Hell D, Leenders KL. Effects of (S)-ketamine on striatal dopamine: a [¹¹C]raclopride PET study of a model psychosis in humans. *Journal of Psychiatric Research*, 2000, 34: 35-43.
33. Durieux ME. Inhibition by ketamine of muscarinic acetylcholine receptor function. *Anesthesia Analgesia*, 1995, 81: 57-62.
34. Irnaten M, Wang J, Venkatesan P, Evans C, KS KC, Andresen MC, Mendelowitz D. Ketamine inhibits presynaptic and postsynaptic nicotinic excitation of identified

- cardiac parasympathetic neurons in nucleus ambiguus. *Anesthesiology*, 2002, 96: 667-674.
35. Langsjo JW, Kaisti KK, Aalto S, Hinkka S, Aantaa R, Oikonen V, Sipila H, Kurki T, Silvanto M, Scheinin H. Effects of subanesthetic doses of ketamine on regional cerebral blood flow, oxygen consumption, and blood volume in humans. *Anesthesiology*, 2003, 99: 614-623.
36. Pfenninger EG, Durieux ME, Himmelseher S. Cognitive impairment after small-dose ketamine isomers in comparison to equianalgesic racemic ketamine in human volunteers. *Anesthesiology*, 2002, 96: 357-366.
37. Taffe MA, Davis SA, Gutierrez T, Gold LH. Ketamine impairs multiple cognitive domains in rhesus monkeys. *Drug Alcohol Depend*, 2002, 68: 175-187.
38. Weiner AL, Vieira L, McKay CA, Bayer MJ. Ketamine abusers presenting to the emergency department: a case series. *The Journal of Emergency Medicine*, 2000, 18: 447-451.
39. Weir E. Raves: a review of the culture, the drugs and the prevention of harm. *Canadian Medical Association Journal*, 2000, 162: 1843-1848.
40. Dalgarno PJ, Shewan D. Illicit use of ketamine in Scotland. *Journal of Psychoactive Drugs*, 1996, 28: 191-199.
41. Lim DK. Ketamine associated psychedelic effects and dependence. *Singapore Medical Journal*, 2003, 44: 31-34.
42. Smith KM, Larive LL, Romanelli F. Club drugs: methylenedioxymethamphetamine, flunitrazepam, ketamine hydrochloride, and gamma-hydroxybutyrate. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 2002, 59: 1067-1076.
43. Freese TE, Miotto K, Reback CJ. The effects and consequences of selected club drugs. *Journal of Substance Abuse Treatment*, 2002, 23: 151-156.

44. Gill JR, Stajic M. Ketamine in non-hospital and hospital deaths in New York City. *Journal of Forensic Science*, 2000, 45: 655-658.
45. Rofael HZ, Abdel-Rahman MS. The role of ketamine on plasma cocaine pharmacokinetics in rat. *Toxicology Letters*, 2002, 129: 167-176.
46. Rofael HZ, Turkall RM, Abdel-Rahman MS. Effect of ketamine on cocaine-induced immunotoxicity in rats. *International Journal of Toxicology*, 2003, 22: 343-358.
47. Abdel-Rahman MS, Ismail EE. Teratogenic effect of ketamine and cocaine in CF-1 mice. *Teratology*, 2000, 61: 291-296.
48. Gahlinger PM. Club drugs: MDMA, gamma-hydroxybutyrate (GHB), Rohypnol, and ketamine. *American Family Physician*, 2004, 69: 2619-2626.
49. Giannini AJ, Underwood NA, Condon M. Acute ketamine intoxication treated by haloperidol: a preliminary study. *American Journal of Therapeutics*, 2000, 7: 389-391.
50. Kam PCA, Power I. New selective COX-2 inhibitors. *Pain Reviews*, 2000, 7: 7-13.
51. Thawani V, Sontakke S, Gharpure K, Pimpalkhute S. Nimesulide: The current controversy. *Indian Journal of Pharmacology*, 2003, 35: 121-122.
52. Suleyman H, Demircan B, Karagoz Y. Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors. *Pharmacological Reports*, 2007, 59: 247-258.
53. Cullen L, Kelly L, Connor SO, Fitzgerald DJ. Selective cyclooxygenase-2 inhibition by nimesulide in man. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1998, 287: 578-582.
54. Nakatsugi S, Terada N, Yoshimura T, Horie Y, Furukawa M. Effects of nimesulide, a preferential cyclooxygenase-2 inhibitor, on carrageenan-induced pleurisy and stress-induced gastric lesions in rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 1996, 55: 395-402.

55. Ferreira SH. Peripheral analgesic sites of action of anti-inflammatory drugs. *International Journal of Clinical Pharmacy Pract Suppl*, 2002; 2-10.
56. Werner MFP, Souza GEP, Zampronio AR. Nimesulide-induced antipyresis in rats involves both cyclooxygenase-dependent and independent mechanisms. *European Journal of Pharmacology*, 2006, 543: 181-189.
57. Chandra J, Bhatnagar SK. Antipyretics in children. *Indian Journal of Pediatrics*, 2002, 69: 69-74.
58. Tool AT, Verhoeven AJ. Inhibition of the production of platelet activating factor and of leukotriene B4 in activated neutrophils by nimesulide due to an elevation of intracellular cyclic adenosine monophosphate. *Arzneimittelforschung*, 1995, 45: 1110-1114.
59. Verhoeven AJ, Tool AT, Kuijpers TW, Roos D. Nimesulide inhibits platelet-activating factor synthesis in activated human neutrophils. *Drugs*, 1993, 46 Suppl 1: 52-58.
60. Famaey JP. In vitro and in vivo pharmacological evidence of selective cyclooxygenase-2 inhibition by nimesulide: an overview. *Inflammation Research*, 1997, 46: 437-446.
61. Kotsinas A, Gorgoulis V, Zacharatos P, Zioris H, Triposkiadis F, Donta I, Kyriakidis M, Karayannacos P, Kittas C. Antioxidant agent nimesulid and beta-blocker metoprolol do not exert protective effects against rat mitochondrial DNA alterations in adriamycin-induced cardiotoxicity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1999, 254: 651-656.
62. Akgun H, Balkan A, Bilgin AA, Calis U, Gokhan N, Dalkara S, Erdogan H, Erol DD, Ertan M, Ozkanli F, Palaska E, Sarac S, Safak C, Tozkoparan B. *Farmasötik Kimya, Hacettepe Üniversitesi*, 2004.

63. Michaux C, Charlier C. Structural approach for COX-2 inhibition. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2004, 4: 603-615.
64. Futaki N, Yoshikawa K, Hamasaka Y, Arai I, Higuchi S, Iizuka H, Otomo S. NS-398, a novel non-steroidal anti-inflammatory drug with potent analgesic and antipyretic effects, which causes minimal stomach lesions. *General Pharmacology*, 1993, 24: 105-110.
65. Klein T, Nusing RM, Pfeilschifter J, Ullrich V. Selective inhibition of cyclooxygenase 2. *Biochemical Pharmacology*, 1994, 48: 1605-1610.
66. Tavares IA, Bishai PM, Bennett A. Activity of nimesulide on constitutive and inducible cyclooxygenases. *Arzneimittelforschung*, 1995, 45: 1093-1095.
67. Teixeira LHP, Fraga CAM, Barrierio EJ. Synthesis of new 1,2-Benzothiazin-3-one Derivatives Designed as Dual Cyclooxygenase-2 and 5-Lipoxygenase Inhibitors. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 1988, 9: 119-130.
68. Fabiola GF, Pattabhi V, Nagarajan K. Structural basis for selective inhibition of COX-2 by nimesulide. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 1998, 6: 2337-2344.
69. Burke A, Smyth E, Fitz GGA. In Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, New-York, Mc Graw-Hill, 2006: 671-717.
70. Davis R, Brogden RN. Nimesulide. An update of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy. *Drugs*, 1994, 48: 431-454.
71. Rewari S, Gupta U. Modification of antihistaminic activity of cetirizine by nimesulide. *Journal of the Association of Physicians of India*, 1999, 47: 389-392.
72. Grimes KR, Warren GW, Fang F, Xu Y, St Clair WH. Cyclooxygenase-2 inhibitor, nimesulide, improves radiation treatment against non-small cell lung cancer both in vitro and in vivo. *Oncology Reports*, 2006, 16: 771-776.

73. Buttgereit F, Burmester GR, Simon LS. Gastrointestinal toxic side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2-specific inhibitors. *American Journal of Medicine*, 2001, 110: 13-19.
74. Rainsford KD. Current status of the therapeutic uses and actions of the preferential cyclo-oxygenase-2 NSAID, nimesulide. *Inflammopharmacology*, 2006, 14: 120-137.
75. White WB, Faich G, Whelton A, Maurath C, Ridge NJ, Verburg KM, Geis GS, Lefkowitz JB. Comparison of thromboembolic events in patients treated with celecoxib, a cyclooxygenase-2 specific inhibitor, versus ibuprofen or diclofenac. *American Journal of Cardiology*, 2002, 89: 425-430.
76. Kaushal N, Sanyal SN. Modulations in the intestinal disaccharide hydrolases and membrane dynamics: effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs aspirin and nimesulide. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2007, 294: 107-115.
77. Andrade RJ, Lucena MI, Fernandez MC, Gonzalez M. Fatal hepatitis associated with nimesulide. *Journal of Hepatology*, 2000, 32: 174.
78. Merlani G, Fox M, Oehen HP, Cathomas G, Renner EL, Fattinger K, Schneemann M, Kullak-Ublick GA. Fatal hepatotoxicity secondary to nimesulide. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 2001, 57: 321-326.
79. Moreno AJ, Oliveira PJ, Nova CD, Alvaro AR, Moreira RA, Santos SM, Macedo T. Unaltered hepatic oxidative phosphorylation and mitochondrial permeability transition in wistar rats treated with nimesulide: Relevance for nimesulide toxicity characterization. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2007, 21: 53-61.

80. Diao HL, Zhu H, Ma H, Tan HN, Cong J, Su RW, Yang ZM. Rat ovulation, implantation and decidualization are severely compromised by COX-2 inhibitors. *Frontiers in Bioscience*, 2007, 12: 3333-3342.
81. Suleyman H, Akcay F, Altinkaynak K. The effect of nimesulide on the indomethacin- and ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Pharmacological Research*, 2002, 45: 155-158.
82. Suleyman H, Altinkaynak K, Gocer F, Maras A, Akcay F, Onuk MD, Gepdiremen A. Effect of nimesulide on the indomethacin- and ibuprofen-induced ulcer in rat gastric tissue. *Polish Journal of Pharmacology*, 2002, 54: 255-259.
83. Suleyman H, Salamci E, Cadirci E, Halici Z. Beneficial interaction of nimesulide with NSAIDs. *Medicinal Chemistry Research*, 2007, 16: 78-87.
84. Suleyman H, Demirezer LO, Kuruuzum-Uz A. Effects of Rumex patientia root extract on indomethacin and ethanol induced gastric damage in rats. *Pharmazie*, 2004, 59: 147-149.
85. Thannickal VJ, Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signaling. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2000, 279:1005-1028.
86. Seshiah PN, Weber DS, Rocic P, Valppu L, Taniyama Y, Griendling KK. Angiotensin II stimulation of NAD(P)H oxidase activity: upstream mediators. *Circulation Research*, 2002, 91: 406-413.
87. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 2001, 54: 176-186.
88. Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci P. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine*, 2005, 39: 841-852.

89. Opara EC, Abdel-Rahman E, Soliman S, Kamel WA, Souka S, Lowe JE, Abdel-Aleem S. Depletion of total antioxidant capacity in type 2 diabetes. *Metabolism*, 1999, 48: 1414-1417.
90. Prasad K, Kalra J, Chan WP, Chaudhary AK. Effect of oxygen free radicals on cardiovascular function at organ and cellular levels. *American Heart Journal*, 1989, 117: 1196-1202.
91. Giles NM, Giles GI, Holley JE, Gutowski NJ, Jacob C. Targeting oxidative stress-related diseases: organochalcogen catalysts as redox sensitizers. *Biochemical Pharmacology*, 2003, 66: 2021-2028.
92. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 1984, 219: 1-14.
93. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 1979, 95: 351-358.
94. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 1995, 41: 1819-1828.
95. Aruoma OI. Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 1999, 8: 53-63.
96. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993, 90: 7915-7922.
97. Lohinai ZM, Szabo C. Role of nitric oxide in physiology and patophysiology of periodontal tissues. *Medical Science Monitor*, 1998, 4: 1089-1095.
98. Goulart M, Batoreu MC, Rodrigues AS, Laires A, Rueff J. Lipoperoxidation products and thiol antioxidants in chromium exposed workers. *Mutagenesis*, 2005, 20: 311-315.

99. Akkuş T. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Konya Mimoza yayınları 1995.
100. Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*, 2002, 181-182: 219-222.
101. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *Faseb Journal*, 2003, 17: 1195-1214.
102. Knaapen AM, Gungor N, Schins RP, Borm PJ, Van Schooten FJ. Neutrophils and respiratory tract DNA damage and mutagenesis: a review. *Mutagenesis*, 2006, 21: 225-236.
103. Powell SR. The antioxidant properties of zinc. *Journal of Nutrition*, 2000, 130: 1447-1454.
104. Kocyigit A, Erel O, Gur S. Effects of tobacco smoking on plasma selenium, zinc, copper and iron concentrations and related antioxidative enzyme activities. *Clinical Biochemistry*, 2001, 34: 629-633.
105. Kleczkowski M, Klucinski W, Sikora J, Zdanowicz M, Dziekan P. Role of the antioxidants in the protection against oxidative stress in cattle--nonenzymatic mechanisms (Part 2). *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2003, 6: 301-308.
106. McCord JM, Fridovich I. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. II. The mechanism of the mediation of cytochrome c reduction by a variety of electron carriers. *The Journal of Biological Chemistry*, 1970, 245: 1374-1377.
107. Taysi S, Kocer I, Memisogullari R, Kiziltunc A. Serum oxidant/antioxidant status in patients with Behcet's disease. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 2002, 32: 377-382.

108. Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 27: 951-965.
109. Chao JC, Huang CH, Wu SJ, Yang SC, Chang NC, Shieh MJ, Lo PN. Effects of beta-carotene, vitamin C and E on antioxidant status in hyperlipidemic smokers. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2002, 13: 427-434.
110. Jialal I, Grundy SM. Effect of combined supplementation with alpha-tocopherol, ascorbate, and beta carotene on low-density lipoprotein oxidation. *Circulation*, 1993, 88: 2780-2786.
111. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VM. Harper's Biochemistry. USA, McGraw-Hill 2000.
112. Van Haaften RI, Evelo CT, Penders J, Eijnwachter MP, Haenen GR, Bast A. Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by tocopherols and alpha-tocopherol derivatives. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2001, 1548: 23-28.
113. Knapen MF, Zusterzeel PL, Peters WH, Steegers EA. Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction. A review. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 1999, 82: 171-184.
114. Hiraishi H, Terano A, Ota S, Mutoh H, Sugimoto T, Harada T, Razandi M, Ivey KJ. Protection of cultured rat gastric cells against oxidant-induced damage by exogenous glutathione. *Gastroenterology*, 1994, 106: 1199-1207.
115. Tariq M. Gastric anti-ulcer and cytoprotective effect of vitamin E in rats. *Research Communications in Chemical Pathology & Pharmacology*, 1988, 60: 87-96.
116. Rock CL, Jacob RA, Bowen PE. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. *Journal of the American Dietetic Association*, 1996, 96: 693-702; 703-704.

117. Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ. Melatonin: A potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocrine Journal*, 1993, 1: 57-60.
118. Pablos MI, Reiter RJ, Chuang JI, Ortiz GG, Guerrero JM, Sewerynek E, Agapito MT, Melchiorri D, Lawrence R, Deneke SM. Acutely administered melatonin reduces oxidative damage in lung and brain induced by hyperbaric oxygen. *Journal of Applied Physiology (1985)*, 1997, 83: 354-358.
119. Kotler M, Rodriguez C, Sainz RM, Antolin I, Menendez-Pelaez A. Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. *Journal of Pineal Research*, 1998, 24: 83-89.
120. Kurt A, Isaoglu U, Yilmaz M, Calik M, Polat B, Hakan H, Ingec M, Suleyman H. Biochemical and histological investigation of famotidine effect on postischemic reperfusion injury in the rat ovary. *Journal of Pediatric Surgery*, 2011, 46: 1817-1823.
121. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 1968, 25: 192-205.
122. Shigenaga MK, Aboujaoude EN, Chen Q, Ames BN. Assays of oxidative DNA damage biomarkers 8-oxo-2'-deoxyguanosine and 8-oxoguanine in nuclear DNA and biological fluids by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Methods in Enzymology*, 1994, 234: 16-33.
123. Kaur H, Halliwell B. Measurement of oxidized and methylated DNA bases by HPLC with electrochemical detection. *Biochemical Journal*, 1996, 318 (Pt 1): 21-23.

124. Floyd RA, Watson JJ, Wong PK, Altmiller DH, Rickard RC. Hydroxyl free radical adduct of deoxyguanosine: sensitive detection and mechanisms of formation. *Free Radical Research Communications*, 1986, 1: 163-172.
125. Asami S, Hirano T, Yamaguchi R, Tomioka Y, Itoh H, Kasai H. Increase of a type of oxidative DNA damage, 8-hydroxyguanine, and its repair activity in human leukocytes by cigarette smoking. *Cancer Research*, 1996, 56: 2546-2549.
126. Ahiskalioglu A, Ince I, Aksoy M, Ahiskalioglu EO, Comez M, Dostbil A, Celik M, Alp HH, Coskun R, Taghizadehghalehjoughi A, Suleyman B. Comparative Investigation of Protective Effects of Metyrosine and Metoprolol Against Ketamine Cardiotoxicity in Rats. *Cardiovascular Toxicology*, 2014.
127. Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *The Journal of Lipid Research*, 1998, 39: 1529-1542.
128. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J*, 1984, 222: 1-15.
129. Kisaoglu A, Borekci B, Yapca OE, Bilen H, Suleyman H. Tissue Damage and Oxidant/Antioxidant Balance. *The Eurasian Journal of Medicine*, 2013, 45: 47-49.
130. Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI, Aldini G. Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Archives Biochemistry Biophysics*, 2004, 430: 97-103.
131. Aguilar A, Alvarez-Vijande R, Capdevila S, Alcobarro J, Alcaraz A. Antioxidant patterns (superoxide dismutase, glutathione reductase, and glutathione peroxidase) in kidneys from non-heart-beating-donors: experimental study. *Transplantation Proceedings*, 2007, 39: 249-252.

132. Ushijima I, Mizuki Y, Yamada M. The mode of action of bromocriptine following pretreatment with reserpine and alpha-methyl-p-tyrosine in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 1988, 95: 29-33.
133. Evans MD, Cooke MS. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *BioEssays*, 2004, 26: 533-542.
134. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine, 3th ed. United States, Oxford University Press, 1999.
135. Newby LK, Gibler WB, Ohman EM, Christenson RH. Biochemical markers in suspected acute myocardial infarction: the need for early assessment. *Clinical Chemistry*, 1995, 41: 1263-1265.
136. Polat B, Suleyman H, Sener E, Akcay F. Examination of the effects of thiamine and thiamine pyrophosphate on Doxorubicin-induced experimental cardiotoxicity. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 2015, 20: 221-229.
137. Lott JA, Stang JM. Serum enzymes and isoenzymes in the diagnosis and differential diagnosis of myocardial ischemia and necrosis. *Clinical Chemistry*, 1980, 26: 1241-1250.
138. Zhang JG, Lindup WE. Differential effects of cisplatin on the production of NADH-dependent superoxide and the activity of antioxidant enzymes in rat renal cortical slices in vitro. *Pharmacology Toxicology*, 1996, 79: 191-198.
139. Al-Majed AA, Sayed-Ahmed MM, Al-Yahya AA, Aleisa AM, Al-Rejaie SS, Al-Shabanah OA. Propionyl-L-carnitine prevents the progression of cisplatin-induced cardiomyopathy in a carnitine-depleted rat model. *Pharmacological Research*, 2006, 53: 278-286.

140. El-Awady el SE, Moustafa YM, Abo-Elmatty DM, Radwan A. Cisplatin-induced cardiotoxicity: Mechanisms and cardioprotective strategies. *European Journal of Pharmacology*, 2011, 650: 335-341.
141. Hussein A, Ahmed AA, Shouman SA, Sharawy S. Ameliorating effect of DL-alpha-lipoic acid against cisplatin-induced nephrotoxicity and cardiotoxicity in experimental animals. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 2012, 6: 147-156.
142. Gongadze NV, Kezeli TD. Use of zafirlucast, cysteine-containing leukotriene antagonist, in epinephrine-induced heart injury. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2002, 134: 451-453.
143. Suleyman H, Guvenalp Z, Kizilkaya M, Demirezer LO. Sedative effect of *Centranthus longiflorus* ssp. *longiflorus* in rats and the influence of adrenalectomy on its effect. *Yakugaku Zasshi*, 2007, 127: 1263-1265.
144. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3th. Philadelphia, WB Saunders Company, 1999: 1545.
145. Czyrak A, Fijal K, Mackowiak M, Zajackowski W, Wedzony K. Metirapone, an inhibitor of corticosterone synthesis, blocks the kainic acid-induced expression of HSP 70. *Synapse*, 2000, 38: 144-50.
146. Hustveit O, Maurset A, Oye I. Interaction of the chiral forms of ketamine with opioid, phencyclidine, sigma and muscarinic receptors. *Pharmacology Toxicology*, 1995, 77: 355-359.
147. Aida S, Baba H, Yamakura T, Taga K, Fukuda S, Shimoji K. The effectiveness of preemptive analgesia varies according to the type of surgery: a randomized, double-blind study. *Anesthesia & Analgesia*, 1999, 89: 711-716.
148. Vane J, Botting R. Inflammation and the mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *FASEB Journal*, 1987, 1: 89-96.

149. McCord JM, Roy RS. The pathophysiology of superoxide: roles in inflammation and ischemia. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 1982, 60: 1346-1352.
150. Asano T, Dohi S, Iida H. Antinociceptive action of epidural K⁺(ATP) channel openers via interaction with morphine and an $\alpha(2)$ -adrenergic agonist in rats. *Anesthesia Analgesia*, 2000, 90: 1146-1151.
151. Tallarida RJ, Stone DJ, Jr., McCary JD, Raffa RB. Response surface analysis of synergism between morphine and clonidine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1999, 289: 8-13.
152. Bevilacqua M, Magni E. Recent contributions to knowledge of the mechanism of action of nimesulide. *Drugs*, 1993, 46 Suppl 1: 40-47.
153. Rainsford KD, Members of the Consensus Report Group on N. Nimesulide -- a multifactorial approach to inflammation and pain: scientific and clinical consensus. *Current Medical Research and Opinion*, 2006, 22: 1161-1170.

EKLER

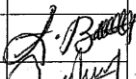
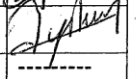
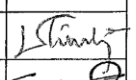
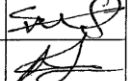
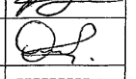
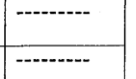
EK-1. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	: Renad MAMMADOV
Doğum tarihi	18.03.1984
Doğum yeri	: Azerbaycan
Medeni hali	: Bekar
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı. ERZURUM
Tel	: 0507-011-59-22
Faks	-
E-mail	renad_mamedov@hotmail.com
EĞİTİM	
Lise	: Azerbaycan Narimanabad adına Rus Okulu
Lisans	: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Yüksek lisans	:
Doktora	- Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
YABANCI DİL BİLGİSİ	
Rusça	: 87.5
ÜYE OLUNAN MESLEKİ KURULUŞLAR	
-	
-	
-	
İLGİ ALANLARI, HOBİLER	
Dağ sporları,bisiklet.	

EK-2. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ONAY FORMU

T.C. RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI (Republic of Turkey Recep Tayyip Erdogan University Local Ethics Committee for Animal Experiments)				
BAŞVURU BİLGİLERİ (Application Information)	ETİK KURUL DOSYA NO(REFERENCE):			
	ÇALIŞMANIN ADI	Sıçanlarda Ketamin Anestezisine Bağlı Kardiyotoksitenin Nimesulid ile Önlenmesi Ve Nimesulidin Ketaminle Yararlı Etkileşimi		
	Title	The prevention of Ketamine anesthesia-induced cardiotoxicity by Nimesulide and interaction of Nimesulide with Ketamine in rats.		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (Director of Project)	Prof.Dr. Halis SÜLEYMAN		
	DİĞER GÖREVLİLER (Researchers)	Erol AKPINAR, Renad MAMMADOV		
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu		
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER		☒ Tek Merkez Ulusal	☐ Çok Merkezli Ulusal	☐ Çok Merkezli Uluslararası

KARAR BİLGİLERİ Decision Information	Karar No(Decision No):2014/57		Tarih (Date):27.08.2014
	R.T.E Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden, Prof.Dr.Halis SÜLEYMAN'ın sorumluluğunda yürütülen ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Hayvan Deneyleri Araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmacının gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına katılan üyelerin oy birliğiyle karar verilmiştir.		
The study above has been approved by the Local Ethics Committee of R.T.E.University.			
☒ Accepted		☐ Rejected	

ÜYELER (Members)						
Ünvanı/ Adı/ Soyadı Ek Üyeligi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Doç. Dr. Fikri BALTA (BAŞKAN)	Su Ürünleri	R.T.E. Üniversitesi Su Ürünleri Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Adnan YILMAZ (Başkan Vekili)	Tıbbi Biyokimya	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Nurhayat ÖZDEMİR (Üye)	Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Fen Edebiyat Fak.	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	-----
Yrd. Doç. Dr. Levent TÜMKAYA (Üye)	Histoloji Embriyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Saliha EKŞİ (Üye)	Tıbbi Mikrobiyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Hatice SEVİM(Üye)	Tıbbi Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Nihal ÇETİN (Üye)	Tıbbi Farmakoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Bariş KARA (Üye)	Sağlık Çalışanı	Sağlık Sen	E	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	-----
Eylem RAKICI EKŞİOĞLU (Üye)	Serbest Çalışan	Sivil Üye	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	-----

*Araştırma ile ilişkisi(Relation to the project, E: Yes, H: No)

**Toplantıda Bulunma(Attendance, E: Yes, H: No)

EK-3. TABLO 3.2. DENEYLER AŞAMASINDA KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE TEMİN EDİLDİKLERİ FİRMA İSİMLERİ AŞAĞIDA BELİRTİLMİŞTİR.

Kimyasal Maddeler	Firması
Nimesulid	DEVA
Ketamin	PFİZER LTD.ŞTİ
Potasyum Klorür (KCl)	MERCK
Hidroklorik asit (HCl)	MERCK
Sodyum hidroksit (NaOH)	MERCK
5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)	SIGMA
Mixed Alkyl (Hexadecyl) Trimetyl Amonyum Bromid (HDTMAB)	SIGMA
4-Aminoantipyrine (4-AAP)	SIGMA
Potasyum Fosfat Monobazik (KH ₂ PO ₄)	FISHER
Etilendiamintetraasetikasit Disodyum Tuzu (Na ₂ EDTA)	MERCK
Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)	SIGMA
Asetik asit (CH ₃ COOH)	RIEDEL
Tiyobarbitürik asit (TBA, C ₄ MH ₄ O ₂ N ₂ S)	MERCK
Hidrojen Peroksit (%30, H ₂ O ₂)	MERCK
N-Bütanol	FULUKA
Piridin	SIGMA
Glutasyonİ Redükte Form (GSH, C ₂₀ H ₃₂ N ₆ O ₁₃ S ₃₂)	SIGMA
Glutasyon Redüktaz (GR, EC 1,6,4,2)	SIGMA
NADPH, Tetrasodyum Salt, Redükte Form (C ₂₁ H ₂₆ N ₇ O ₁₇ P ₃ Na ₄)	SIGMA
NaN ₃	FULUKA
Triton-x-100	SIGMA
1-choloro 2,4 dinitro benzen (CDNB)	SIGMA
Ksantin (C ₅ H ₄ NaO ₂)	SIGMA
Sodyum karbonat (Na ₂ CO ₃)	MERCK
Bovine serum albümin	SIGMA

Amonyum Sülfat ((NH ₄) ₂ SO ₄)	SIGMA
Çinko Sülfat (ZnSO ₄)	MERCK
Sülfonilamid	SIGMA
Fosforik Asit	SIGMA
N-1 Napthylendiamine (C ₁₂ H ₁₄ N ₂ .2HCl)	SIGMA
Flavin adenin dinükleotid (FAD)	SIGMA
Tris HCl	SIGMA
2-merkapto etanol	SIGMA
Fenol	SIGMA
Kloroform	SIGMA
İzopropanol	SIGMA
Sodyum asetat	SIGMA
Formik asit	SIGMA
Deoksiganin	SIGMA
8-hidroksi-2 deoksiganin	SIGMA
Formaldehit	SIGMA
Ksilen	SIGMA
Troponin I kiti	VIDAS
CK ve CK-MB Kiti	ROCHE/HITACHICOBAS
PureLink RNA Mini Kit	Ambion
TRI Reagent 100ml	Sigma
High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit 200 reactions	Applied biosystem
Taq Man Gene Expression Master Mix kiti	Applied Biosystems
TPK enzim assay	Primer Design
Housekeeping Assay: ACTB	Applied Biosystems