

Ketamine-Ksilazin Anestezisi uygulanmış Bozova Tazılarında Oksidatif Stres Parametreleri

Oxidative Stress Parameters in Xylazine-Ketamine Administered Bozova Greyhounds

Özet

Bu çalışma; Ksilazin-ketamin anestezisinin Bozova tazılarında bazı iz element (Cu, Zn, Mn) ve oksidatif stres parametreleri (SOD, CAT, GPx, MDA) üzerine etkilerini değerlendirmek amacıyla yapıldı. Farklı yaş ve vücut ağırlığında toplam sekiz erkek tazi kullanıldı. Farklı şikâyetlerle gelen bu hayvanlara Ketamin (10mg/kg) ve ksilazin (1 mg / k g) kas içi enjekte edildi. Anestezi öncesi ve sırasında V.Cephalikadan kan örnekleri alındı. Eritrosit süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GPx), malondialdehit (MDA) ve plazma Katalaz (CAT) değerleri standart metotlarla, serum bakır, çinko, manganez düzeyleri ICP-OES ile belirlendi. Bu çalışmada; SOD aktivitesinin anestezi sonrasında düşük ($p<0,05$) olduğu belirlenirken GPx, MDA, CAT, Cu, Zn ve Mn seviyelerinde istatistiksel olarak önemli bir fark belirlenmedi ($p>0,05$). Sonuç olarak, ketamin ve ksilazin anestezisinin Bozova tazılarında serum Cu, Zn, Mn seviyeleri ve oksidatif stres yönünden güvenli ve kullanılabilir olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Bozova tazısı, oksidatif stres, SOD, CAT, GPx, MDA, Cu, Zn, Mn

Abstract

The present study was conducted to evaluate the effects of xylazine-ketamine anesthesia on some micro elements and oxidative stress parameters in Bozova greyhounds. In the study eight male greyhounds, which were in different age and body weight were used as the material. The animals, which were, came in clinic with different complaints injected with the ketamine (10 mg/kg) and xylazine (1 mg/kg) intramuscularly. The findings were recorded before and during anesthesia. Blood samples were collected from the vena cephalica. Serum copper, zinc, manganese levels were determined by an ICP-OES. Superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), malondialdehyde (MDA) and catalase (CAT) were measured by validated standard methods. In this study, while SOD activity was lower ($p<0,05$) in the post-anesthesia; a statistically significant difference wasn't determined between the levels of Cu, Zn, Mn and, CAT, GPx, MDA ($p>0,05$). In conclusion, we regard to it was seen that sera copper, zinc, manganese levels and oxidative stress parameters, ketamine-xylazine anesthetics can be used safely in Bozova greyhounds.

Key words: Bozova Greyhounds, oxidative stress, SOD, CAT, GPx, MDA, Cu, Zn, Mn

Güzin CAMKERTEN^{1*}

İlker CAMKERTEN²,

Nihat ŞINDAK³,

Gaye BULUT⁴

¹Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Laborant ve Veteriner Sağlık Programı, Aksaray Üniversitesi, 68100, Aksaray, TÜRKİYE

²İç Hastalıkları AD, Veteriner Fakültesi, Aksaray Üniversitesi, 68100, Aksaray, TÜRKİYE

³Cerrahi AD, Veteriner Fakültesi, Siirt Üniversitesi, Siirt, TÜRKİYE

⁴Doğum ve Jinekoloji AD, Veteriner Fakültesi, Aksaray Üniversitesi, 68100, Aksaray, TÜRKİYE

***Sorumlu yazar**

Güzin CAMKERTEN

Teknik Bilimler MYO Hacılar Harmanı Mh. No:1 Otagar yanı Aksaray / TÜRKİYE

oguzalperen@hotmail.com

Copyright © 2016 JAVST

Giriş

Anestezi birçok cerrahi ve medikal işlemin etkili ve güvenilir bir şekilde yapılabilmesini sağlayan bir yöntemdir. Bu amaçla ksilazin- ketamin kombinasyonu evcil hayvanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Her kimyasal madde gibi anestezi de organizmada birçok sistemik ve metabolik etkiye sahiptir ve bu etkiler 1970' li yıllardan itibaren birçok araştırmaya (Allen vd, 1986; Klide vd, 1975; Haskins vd, 1985, Haskins vd, 1986) konu olmuştur. Bununla birlikte xylazine ve ketamin kombinasyonu köpeklerde genelde güvenle kullanılabilir ve hematolojik verilerde önemli değişiklikler yapmaz. Örneğin Kurtde de vd (1994) sağlıklı köpeklerde xylazine veya xylazine + ketamine enjeksiyonları üzerine yaptıkları çalışmada bu uygulamanın kan gazları ve hematolojik değerlerde istatistik olarak önemli değişikliklere neden olmadığını bildirmiştir.

Serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri (ROS) olan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalleri (OH), organizmanın DNA, lipid ve proteinlerinde hasar oluşturur. Ancak sağlıklı canlılarda ROS, enzimatik ve nonenzimatik antioksidatif mekanizmalar ile vücuttan uzaklaştırılabilir. Bununla birlikte insan ve hayvanlarda leishmaniosis, Behcet hastalığı, pnömoni gibi durumlarda oksidatif-antioksidatif denge organizmanın aleyhine bozulabilir (Camkerten vd, 2009). MDA, oksidatif stres sırasında oluşur ve proteinleri denatüre ederek sitokinler gibi proinflammatory mediatorlerin oluşmasına neden olur. SODs ve CAT gibi antioksidant molekülleri, deride ROS ya da onların ürünlerinin olumsuz etkilerini minimize edebilir (Bickers ve Athar, 2006). Yine kandaki Cu, Zn, Mn gibi iz elementlerin gerek hastalık durumlarında gerekse kimyasal kullanımında kandaki seviyeleri değişebilir (Camkerten vd, 2009).

“Bozova Tazıları” Şanlıurfa ili Bozova ilçesinde yetişmekte ve av amaçlı kullanılmaktadır (Şındak vd, 2010). Yaptığımız literatür taramalara göre, tazılarda ketamin-ksilazin anestezisinin klinik parametrelere etkileri üzerine az sayıda makale bulunmakta ayrıca oksidatif stres parametreleri konusunda makale bulunmamaktadır. Bozova tazılarında anestezi ile ilgili ise herhangi bir çalışma bildirilmemiştir. Bu çalışmada Ketamine – ksilazin anestezisi uygulanan Bozova tazılarında oksidatif stres parametrelerinin ve bazı minerallerin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmanın materyalini değişik yaş, vücut ağırlığında, erkek, sekiz adet Bozova tazısı oluşturdu. Farklı şikâyetlerle kliniğimize gelen tazılara kas içi ketamine (10 mg/kg) + ksilazin (1 mg/kg) kombinasyonu uygulandı. Anesteziden önce ve sırasında (anestezinin 30. dakikasında) usulüne uygun olarak Vena cephalica antebraçhii den antikoagulanlı ve antikoagulansız olmak üzere iki tüpe kan örnekleri alınmıştır. Eritrosit süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GPx), malondialdehit (MDA) ve plazma Katalaz (CAT) değerleri standart metotlarla, Serum bakır, çinko ve manganez seviyeleri ise Harran Üniversitesi Merkezi Araştırma laboratuvarında ICP-OES ile belirlendi.

Eritrosit Örneklerinin Enzim Analizine Hazırlanması:

Enzim analizi için kullanılan eritrositlerin hazırlanmasında Winterbourn (1975) tarafından belirtilen yöntemden yararlanıldı. Bunun için heparinli tüplere alınan kan örnekleri önce 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Üstteki plazma ve lökosit tabakası pipetle alınıp uzaklaştırıldıktan sonra, tüpün dibine çökmüş olan eritrositler pastör pipeti yardımıyla PBS (salin fosfat tampon çözeltisi) ile 3 kez yıkanarak

ve her seferinde 3000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek tüpün dibinde kalan eritrositlerden 0.4 ml alınıp üzerine 0.4 ml PBS ilave edilip ependorf tüplere porsiyonlanarak kullanıldı.

Eritrosit Hemolizatında Hemoglobin Düzeyi Ölçümü:

Enzim aktivitelerinin hesaplanmasında kullanılan hemoglobin düzeyleri ferrosiyanomethemoglobin metoduyla ölçüldü (Tietz 1987). Hemoglobindeki Fe²⁺, ferrisiyanür ile Fe³⁺'e oksitlenmekte olup potasyum siyanür eklenmesiyle stabil siyanmethemoglobine dönüşmektedir. Siyanmethemoglobinin 540 nm'de ölçülen absorbansı hemoglobin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Katalaz Aktivitesi Ölçümü: Eritrosit hemolizatında katalaz aktivitesi ölçümü için Aebi (1983) tarafından bildirilen yöntem kullanıldı. H₂O₂, ışık spektrumunun UV alanında dalga boyunun azalmasıyla artan bir absorbans vermektedir. Uygun bir tampon içerisinde bulunan H₂O₂'in örnekteki katalaz enzimi etkisiyle yıkımlanması sonucunda bu maddenin 240 nm'de neden olduğu absorbansta azalma meydana gelir. Absorbansta meydana gelen bu azalma, hızı katalaz aktivitesi ile orantılıdır.

SOD Aktivitesi Ölçümü: Eritrosit hemolizatında SOD aktivitesi Sun vd (1988) tarafından geliştirilen bir yöntem ile ölçüldü.

GPX Aktivitesi Ölçümü: Glutasyon peroksidaz aktivitesi Paglia ve Valentine (1967) tarafından bildirilen yöntemle ölçüldü. Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi indirgenmiş nikotinamid dinükleotid fosfatın (NADPH+H⁺) glutasyon redüktaz aracılığı ile oksidasyona bağlıdır. Glutasyonun, terbutil hidroperoksit ile glutasyon peroksidaz katalizörlüğünde reaksiyonu sonucunda okside glutasyon (GSSG) ve su açığa çıkar. Bu reaksiyonda oluşan okside glutasyon, glutasyon redüktaz tarafından NADPH+H⁺ varlığında

tekrar indirgenir. Bu reaksiyonda redükte glutasyon (GSH) miktarı sabit kalır. NADPH+H⁺ ise NADP⁺'a dönüşür.

Eritrosit MDA: Eritrosit MDA seviyesi Buege ve Aust (1978)'nin yöntemine göre belirlendi. Bunun için 250 µL eritrosit; 500 µL TBA ve 1.5 mL % 15 trichloroacetic acid (in 0.25 mol L µ HCl) kombine edildi, karıştırıldı ve kaynayan suda 30 dakika bekletildi. Buz banyosunda soğutulduktan sonra 14000 rpm/5 dakika santrifüje edildi. Süpernatant spektrofotometrik yöntemlerle araştırıldı.

İstatistiki analiz için SPSS 10.0 yazılımı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanıldı. Elde edilen anestezi öncesi ve sonrası verilere "paired-t testi" uygulandı. Sonuçlar "mean ± SE" olarak tablo 1 de verildi. Veriler arasında farklar P<0.05 ise istatistiki olarak önemli kabul edildi.

Bulgular

Çalışmada anestezi sonrası ortalama SOD değerinin anestezi öncesi ortalama değere göre istatistiki açıdan önemli oranda düşük (p<0.05) olduğu belirlendi. CAT, GPx, MDA, Cu, Zn ve Mn değerlerinde ise istatistiki açıdan (p>0.05) fark olmadığı tespit edildi. Çalışma sonuçları Tablo 1' de verildi.

Tartışma

Anestezi süresince stresi tetikleyen ve serbest oksijen radikallerinin salınımını etkileyen faktörler minimize edilmelidir (Wagner vd, 1991). SOD, ROS karşısında ilk savunma çizgisidir ve süperoksit radikallerini detoksifiye etmede rol oynamaktadır. Alternatif olarak, CAT, peroksidaz reaksiyonunu katalize edebilir. Normal şartlarda CAT' in çoğu hücre tipi için büyük bir önemi yoktur ancak oksidatif stres durumunda hücre

savunmasında önemli rol oynar (Todorova vd, 2005). MDA, lipidlerin peroksidasyonu sırasındaki en önemli son üründür. MDA' nın serum/ plasma düzeyi lipid peroksidasyonunu ve serbest radikallerin hücre zararını anlamada en önemli belirteçtir (Abdel-Hafez vd, 2010).

Bu çalışmada, oksidan/antioksidan denge ile Cu, Zn ve Mn değerlerinde istatistiki önemde bir değişiklik tespit edilmemiştir. Yaptığımız literatür taramalarına göre, Ksilazın-ketamin anestezisi uygulanan Bozova tazılarında SOD, CAT aktivitesi ve MDA, Cu, Zn, Mn seviyeleri ilk kez bu çalışmada verilmiştir. SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO₂ artışıyla artar (Altınışık, 2015). İnsanlarda laparoskopik kolesistektomi operasyonunda kullanılan desflurane'ın plasma SOD konsantrasyonunu artırdığı yine desflurane'ın karaciger CAT ve SOD seviyesini artırdığı bildirilmektedir (Altuğ vd, 2008).

Bu çalışmada SOD aktivitesindeki azalmanın anestezinin ilk 30 dakikasında PaO₂ düzeyindeki muhtemel düşüşe bağlı olabileceği şeklinde yorumlandı.

Oksidatif stres ve enzimatik antioksidan savunma biyobelirteçleri sağlık, hayati belirtiler ve performansın takibinde kullanılabilir (Andriichuk vd, 2015). Seçilen anestezige göre oksidatif stres parametrelerinde değişiklikler olabilir. Oksidatif stres açısından değerlendirildiğinde sevofluran desflurandan daha tercih edilebilir bir anesteziktir (Yalcin vd, 2013), Halothane ve Isoflurane anaestezinin oksidatif mekanizmaya olumsuz etkisi yoktur (Yarsan vd, 2010), propofol ise köpeklerde antioksidan etki göstermektedir (Lee ve Kim 2012). Bu çalışmalara benzer olarak ketamine/ksilazın anestezisinin oksidatif mekanizmaya olumsuz etkisinin olmadığı söylenebilir.

Tablo 1. Bozova Tazılarında Anestezi Öncesi ve Sonrası Oksidatif Stres Parametreleri.
Table 1: Oxidative Stress Parameters on Bozova Greyhounds Before and After Anesthesia

	Anestezi öncesi		Anestezi sonrası		P	n: 8
	Mean	SE	Mean	SE		
SOD	361,4	31,4	237,3	40,8	< 0.05	
CAT	245,4	27,2	276,9	31,8	-	
GPX	9561	2103	9676	1951	-	
MDA	8,02	2,20	3,67	0,16	-	
Cu (mg/L)	1,70	0,06	1,69	0,06	-	
Zn (mg/L)	2,70	0,90	5,79	1,42	-	
Mn (mg/L)	0,20	0,06	0,32	0,08	-	

Sonuç

Bozova tazılarından anestezi öncesi ve sonrası elde edilen SOD, CAT aktiviteleri ve MDA Cu, Zn, Mn seviyeleri ile ilgili veriler ışığında ketamin-ksilazın anestezisinin Bozova tazılarında Cu, Zn, Mn ve oksidatif stres yönünden güvenli ve kullanılabilir olduğu söylenebilir.

Kaynaklar

- Abdel-Hafez HZ, Mohamed EE, Abd-Elghany AA.** (2010): Tissue and blood superoxide dismutase activity and malondialdehyde level in leprosy. J Eur Acad Dermatol Venereol. 24(6):704-8.
- Aebi HE** (1983): Catalase in: H.U.Bermeyer (Hrsy). Methods of enzymatic analysis. Verlag Chemie; Weinheim, Bd. III, 273-286.

- Allen DG, Dyson DH, Pascoe PJ, O'Grady MR** (1986): Evaluation of a xylazine-ketamine hydrochloride combination in the cat. *Can J Vet Res.* Jan; 50(1): 23–26.
- Altınışık M** (2015) Serbest Radikaller. Erişim: <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01b.pdf>. Erişim Tarihi: 03.03.2015.
- Altuğ ME, Gönenci R, Yarsan E, Öztürk A** (2008): Effect of Induction Agents on the Antioxidative Activity of Desflurane in Dogs. *YYÜ VET FAK DERG* 19(1): 29-33.
- Andriichuk A, Tkachenko H, Tkachova I** (2015): Oxidative Stress Biomarkers and Erythrocytes Hemolysis in Well-Trained Equine Athletes before and after Exercise. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jjevs.2015.09.011> Published Online: October 08, 2015. Publication stage: In Press Accepted Manuscript.
- Buege AJ, Aust SD** (1978): Microsomal Lipid Peroxidation. *Methods in Enzymology* 52:302-10.
- Bickers DR, Athar M** (2006): Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease. *J Invest Dermatol* 126(12):2565-75.
- Camkerten I, Sahin T, Borazan G, Gökçen A, Erel O, Das A** (2009): Evaluation of blood oxidant/antioxidant balance in dogs with sarcoptic mange. *Veterinary Parasitology* 161: 106–109.
- Haskins SC, Farver TB, Patz JD** (1985): Ketamine in dogs. *Am J Vet Res* 46(9): 1855-60
- Haskins SC, Patz JD, Farver TB** (1986): Xylazine and xylazine-ketamine in dogs. *Am J Vet Res* 47, 636- 641
- Klide AM, Calderwood HW, Soma LR** (1975): Cardiopulmonary effects of xylazine in dogs. *Am J Vet Res* 36: 931-935.
- Kurtdede A, Börkükü MK, Özlem MB, Kalınbacak A** (1994): Sağlıklı köpeklerde xylazine ve xylazine+ketamine 'nin kan gazları ve bazı hematolojik parametreler üzerindeki etkileri. *A.Ü. Vet. Fak. Derg* 41(3,4): 327-335.
- Lee JY, Kim MC** (2012): Effect of propofol on oxidative stress status in erythrocytes from dogs under general anaesthesia. *Acta Veterinaria Scandinavica* 54(1):76.
- Paglie DE, Valentine WN** (1967): Studies on Qualitative and Quantative Characterization of Eeythrocyte Glutathion Peroxidase. *J Lab Clin Met* 70: 158-169.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y** (1988): A simple for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 34: 497-500.
- Şındak N, Camkerten İ, Ceylan C** (2010): Clinical Evaluation of Ketamine-Xylazine Anesthesia in Bozova Greyhounds. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 9 (15): 2025-2029.
- Tietz WN** (1987): Measurement of plasma hemoglobin. *Fundamental of Clinical Chemistry.* Saunders Company. 805-806.
- Todorova I, Simeonova G, Kyuchukova D, Dinev D, Gadjeva V** (2005): Reference values of oxidative stress parameters (MDA, SOD, CAT) in dogs and cats. *Comp Clin Path* 13: 190
- Yalcin S, Aydogan H, Yuce HH, Kucuk A, Karahan Mahmut Alp, Vural M, Camuzcuoglu A, Aksoy N** (2013): Effects of sevoflurane and desflurane on oxidative stress during general anesthesia for elective cesarean section. *Wien Klin Wochenschr* 125:467–473.
- Yarsan E, Gurkan M, Pekcan Z, Ince S, Kumandas A** (2010): Effects of Halothane and Isoflurane Anaesthesia on Antioxidant Enzymes in Dogs *Journal of Animal and Veterinary Advances* 9 (19): 2513-2516.
- Wagner AE, Muir WW, Hinchdiff KW** (1991): Cardiovascular effects of xylazine and detomidine in horses. *Am J Vet Res* 52: 651-657.
- Winterbourn CC, Hawkins RE, Brain M, Carrel W** (1975): The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med*, 55, 337-341.