

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

**UZAK İSKEMİK ÖNKOŞULLAMA İLE BİRLİKTE
KULLANILAN DEKSMEDETOMİDİNİN SIÇAN RENAL
İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA ETKİLERİ**

DR. EMİNE AYDIN

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2012

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

**UZAK İSKEMİK ÖNKOŞULLAMA İLE BİRLİKTE
KULLANILAN DEKSMEDETOMİDİNİN SIÇAN RENAL
İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. EMİNE AYDIN

Danışman Öğretim Üyesi: Doç. Dr. Sevda ÖZKARDEŞLER

TESEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım ve anesteziyolojinin temel ilkelerini öğrendiğim hocalarım; Prof.Dr.Ali Günerli, Prof.Dr.Zahide Elar, Prof.Dr.Atalay Arkan, Prof.Dr.Erol Gökel, Prof.Dr.Semih Küçükgüçlü, Prof.Dr.Ali Necati Gökmen, Prof.Dr.Sermin Öztekin, Prof.Dr.Bahar Kuvaki Balkan, Prof.Dr.Deniz Özzeybek, Prof.Dr.Leyla İyilikçi, Prof.Dr.Hasan Hepağuşlar, Doç.Dr.Ayşe Karıcı, Doç.Dr.Fikret Maltepe, Doç.Dr.Uğur Koca, Doç.Dr.Çimen Olguner, Yrd.Doç.Dr.Yüksel Erkin, Yrd.Doç.Dr.Aydın Taşdöğen, Yrd.Doç.Dr.Mert Akan, Yrd.Doç.Dr.Ferim Günenç'e;

Tez çalışmamın her aşamasında desteğini ve anlayışını esirgemeyen, değerli vaktini cömertçe paylaşan, çok kıymetli danışman hocam Doç.Dr.Sevda Özkardeşler'e;

Tezimde emeği geçen Doç.Dr.Bekir Uğur Ergür, Doç Dr.Ensari Güneli, Uzm.Dr.Nilay Boztaş, Uzm.Dr.Şule Özbilgin, Vet.Aslı Çelik'e ;

Uzmanlık eğitimim boyunca, beraber çalıştığımız öğretim üyelerine, uzmanlara ve asistan arkadaşlarıma, anestezi teknikerleri, ameliyathane, yoğun bakım, ağrı ünitesi, derlenme, gündüz hastanesi hemşire ve personeline;

Sevgisini ve desteğini hep hissettiren canım aileme

Sonsuz Teşekkürler...

Emine AYDIN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TABLO LİSTESİ.....	II
ŞEKİL LİSTESİ	III
GRAFİK LİSTESİ.....	IV
RESİM LİSTESİ	V
KISALTMALAR.....	VI
ÖZET	1
SUMMARY	2
1.GİRİŞ VE AMAÇ	3
2.GENEL BİLGİLER.....	5
2.1.İskemi	5
2.2.Reperfüzyon	8
2.3.Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarı	9
2.4.İskemik Önkoşullama	11
2.5.Farmakolojik Koşullama	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1.Anestezi Uygulaması	16
3.2.Deney Grupları ve Protokol.....	16
3.3.Deneysel Çalışma Modeli	17
3.4.Histomorfolojik İncelemeler	21
3.5. Dışlama Kriterleri	23
3.6.İstatistiksel Değerlendirme	23
4. BULGULAR	24
4.1.Böbrek Histomorfolojik Hasar Skoru.....	25
5. TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	40
7. KAYNAKLAR	41
EK: Etik Kurul Onayı	

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. Gruplara ait histomorfolojik hasar skorları24

Tablo 2. Gruplara ait immunhistokimyasal hasar skorları.....24

SEKİL LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil 1.** Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının sebepleri ve sonuçları.....6
- Şekil 2.** İskemide pürin metabolizmasının gelişimi ve ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza çevrilmesi, reperfüzyonda oksijen radikallerinin oluşumu7
- Şekil 3.** Serbest oksijen radikallerinin dokudaki doğrudan ve dolaylı etkileri.....8
- Şekil 4.** İskemi reperfüzyon sonrası kapiller damardaki değişiklikler.....9
- Şekil 5.** İskemik önkoşullamanın mekanizması.....13
- Şekil 6.** Deney protokolünün şematik görünümü17

GRAFİK LİSTESİ

Sayfa No

Grafik 1. Böbrek histomorfolojik incelemesinde mononükleer hücre infiltrasyon skorları.....	25
Grafik 2. Böbrek histomorfolojik incelemesinde tübüler değişiklik hasar skorları	26
Grafik 3. Böbrek histomorfolojik incelemesinde glomerüler değişiklik hasar skorları	26
Grafik 4. Böbrek histomorfolojik incelemesinde histopatolojik toplam hasar skorları.....	27
Grafik 5. Böbrek immunohistokimyasal skrolama	28

RESİM LİSTESİ

Sayfa No

Resim 1. Renal pediküllerin açığa çıkarılması.....	18
Resim 2. Sıçanın böbrek kan akımının kesilmesi.....	19
Resim 3. Sıçanda bacak kan akımının lazer akımölçerle gösterilmesi.....	20
Resim 4. Sıçanın bacak kan akımının kesildiğinin lazer akımölçerle gösterilmesi.....	20
Resim 5A-5B. <i>Sham</i> grubuna ait kesitler.....	29
Resim 6A-6B. İskemi Reperfüzyon grubuna ait kesitler.....	30
Resim 7A-7B. İskemi Reperfüzyon+Deksmedetomidin grubuna ait kesitler.....	31
Resim 8A-8B. İskemi Reperfüzyon+Uzak İskemik Önkoşullama+Deksmedetomidin grubuna ait kesitler.....	32
Resim 9. Deney gruplarına ait aktif kaspaz-3 immunohistokimya boyalı kesit görüntüleri.....	33

KISALTMALAR

İR	:İskemi-Reperfüzyon
İÖK	:İskemik Ön Koşullama
UİÖK	:Uzak İskemik Önkoşullama
CAT	:Katalaz
SOD	:Süperoksit Dismutaz
O₂	:Oksijen
Na⁺	:Sodyum
K⁺	:Potasyum
ATP	:Adenozin Trifosfat
H₂CO₃	:Karbonik Asit
Ca⁺²	:Kalsiyum
AMP	:Adenozin Monofosfat
KDH	:Ksantin Dehidrogenaz
KO	:Ksantin Oksidaz
NAD	:Nikotinamid Adenin Dinüklotid
ADP	:Adenozin Monofosfat
IMP	:İnozin Monofosfat
C	:Kompleman
TNF	:Tümör Nekroz Faktör
IL	:İnterlökin
cGMP	:Siklik Guanozin Monofosfat
GFH	:Glomerüler Filtrasyon Hızı

NO :Nikrik Oksit

cAMP :Siklik Adenozin Monofosfat

NF-κB :Nükleer Faktör κB

PKC :Protein Kinaz C

ip :İntraperitoneal

MDA :Malonil Dialdehid

ÖZET

Uzak İskemik Önkoşullama İle Birlikte Kullanılan Deksmetomidinin Sıçan Renal İskemi Reperfüzyon Hasarına Etkileri

Dr.Emine AYDIN, DEÜTF Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD, İZMİR

Amaç: Bu çalışmada sıçan renal iskemi reperfüzyon (İR) modelinde, tek taraflı alt ekstremiteye uygulanacak uzak iskemik önkoşullama (UIÖK) ile birlikte deksmedetomidin verilmesinin böbrek hasarına etkisini histopatolojik ve aktif kaspaz 3 immunreaktivitesini değerlendirmek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Ağırlıkları 250-300 g arasında değişen 28 adet sıçan dört gruba ayrıldı. Grup I (*Sham*,n=7)'de laparotomi sonrası anestezinin 65. dk.'sinde renal pediküller açığa çıkarılarak sıçanlar 130 dk. anestezi altında bekletildi. Grup II (İR,n=7)'de anestezinin 65. dk.'sinde bilateral renal pediküllere klemp konuldu, 60 dk. iskemi uygulanıp ardından klemp açılarak 24 saat reperfüzyon yapıldı. Grup III (İR+dexmedetomidin,n=7)'de Grup II'deki işlemin ardından reperfüzyonun 5. dk.'sinde 100 mcg/ kg intraperitoneal deksmedetomidin verildi, 24 saat reperfüzyon yapıldı. Grup IV (İR+UIÖK+Dexmedetomidin,n=7)'de laparotomi sonrası sol arka bacağa 3 döngü 10/ 10 dk. İR uygulandıktan 5 dk. sonra (toplam 65 dk. sonra) Grup III'deki işlemler tekrarlandı.

Bulgular: Histopatolojik hasar skorları ve aktif kaspaz-3 immunreaktivitesi *Sham* grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak düşük bulundu. Grup III ve IV'de, Grup II'ye göre histopatolojik hasar skoru daha düşük saptandı (p=0,03, p=0,05). Aktif kaspaz-3 immunreaktivitesi Grup II ile kıyaslandığında Grup IV'de anlamlı olarak düşük bulunurken (p=0,01), Grup II ve Grup III arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,06).

Sonuç: Deksmetomidin ile farmakolojik koşullama ve UIÖK'ye deksmedetomidin eklenmesi böbrek İR hasarını histomorfolojik olarak anlamlı düzeyde azaltmakta, iki yöntemin birlikte uygulanması aktif kaspaz 3 üzerinden apoptozisi önlemektedir.

Anahtar Kelimeler: Böbrek, iskemi reperfüzyon hasarı, deksmedetomidin, kaspaz-3, iskemik önkoşullama, apoptozis

SUMMARY

The Effects of Remote Ischaemic Preconditioning When Combined with Dexmedetomidine on Renal Ischaemia Reperfusion Injury In Rats

Dr. Emine AYDIN, Dokuz Eylul University, School of Medicine, Dept. of Anaesthesiology, IZMIR

Background: The aim of this study was to evaluate the effects of remote ischaemic preconditioning (RIP) by brief ischemia of unilateral hind limb when combined with dexmedetomidine on renal ischaemia reperfusion (IR) injury by histopathology and active caspase-3 immunoreactivity in rats.

Materials and Methods: 28 Wistar albino male rats weighing approximately 250-300 g were divided into 4 groups. Group I (Sham,n=7): Laparotomy and renal pedicle dissection were performed at 65th min of anaesthesia and the rats were observed under anaesthesia 130 minutes. Group II (IR,n=7): At 65th min of anaesthesia bilateral renal pedicles were clamped. After 60 min ischaemia 24 hours of reperfusion was performed. Group III (IR+dexmedetomidine,n=7): The same surgical procedure was performed with IR group and at the fifth minute of reperfusion (100 µg /kg intra-peritoneal) dexmedetomidine was administered. Reperfusion lasted 24 hours. Group IV (IR+RIP+dexmedetomidine,n=7): After laparotomy, three cycles of ischaemic preconditioning (10 min ischaemia and 10 min reperfusion) were applied to the left hind limb and after five minutes, the same procedure was performed with group III.

Results: Histopathological injury scores and active caspase-3 immunoreactivity was significantly lower in the Sham group compared to the other groups. Histopathological injury scores in group III and IV were significantly lower than group II (p=0.03, p=0.05). Active caspase-3 immunoreactivity was significantly lower in the group IV than group II (p=0.01) and there was no significant difference between group II and III (p=0.06).

Conclusions: Pharmacologic conditioning with dexmedetomidine and RIP when combined with dexmedetomidine significantly decreases renal IR injury histomorphologically. Combined use of two methods prevents apoptosis via active caspase 3.

Key words: Kidney, ischaemia reperfusion injury, dexmedetomidine, caspase-3, ischaemic preconditioning, apoptosis.

1.GİRİŞ VE AMAC

İskemi sonucu oluşan akut böbrek yetersizliği; hipotansiyon, hipovolemi ve dehidratasyona sekonder gelişen hipoperfüzyonun yanı sıra; major kardiyotorasik, vasküler ve transplant cerrahilerinde iskemi reperfüzyon (İR) hasarına bağlı olarak da görülebilir (1-4).

Perioperatif gelişen akut böbrek yetersizliğinin en sık nedenlerinden birisi İR hasarındır (4). İskemi reperfüzyon hasarı, iskemi sonrası öncelikle iskemik dokuların reperfüzyonunu takiben gelişen hücresel hasar olarak tanımlanır. Geri dönüşümsüz hücre hasarını önlemek amacıyla iskemik organ kan akımının düzeltilmesi yani dokunun yeniden kanlanması, iskeminin verdiği hasardan daha büyük bir hasara neden olabilir (5).

İskemi reperfüzyon hasarı; oksidan üretimi, kompleman aktivasyonu, lökosit-endotel hücre adezyonu, artmış mikrovasküler permeabilite, lökosit göçü, platelet lökosit agregasyonu ile karakterize lokal ve sistemik enflamatuvar bir yanıttır (5).

İskemi reperfüzyon hasarının etkilerini azaltmak için kullanılan yöntemler arasında uzak iskemik önkoşullama (UİÖK) ve farmakolojik koşullama en sık tercih edilenlerdir (6).

Uzmuş iskeminin zararlı etkilerinden korunmak amacıyla dokuların kısa süreli olarak iskemiye maruz bırakılması ile İR sonrası oluşan hasara karşı adaptasyon sağlanmış olur. Bu, iskemik önkoşullama (İÖK) olarak adlandırılır. İlk kez 1986 yılında Murry ve ark. (7) tarafından kalpte tarif edilmiştir. Bir diğer yöntem de bir organın kısa süreli iskemiye maruz bırakılarak diğer organların iskemiye dayanıklı hale getirilmesidir. Bu UİÖK olarak bilinir. Uzak İÖK da ilk kez 1993'te kalpte gösterilmiştir (8). İskemik önkoşullamanın, İR sonrası ventriküler fonksiyonu iyileştirdiği ve miyokardiyal hücre apoptozisini deneysel olarak azalttığı saptanmıştır (9,10).

Song ve ark. (11) *kontrateral* nefrektomi yapılmış sıçanlarda ince bağırsağa 3 döngü halinde 8 dk. iskemi, 5 dk. reperfüzyon uyguladıktan sonra renal arteri 45 dk. klempleyerek böbrekte iskemi oluşturmuşlar, UİÖK ile lipid peroksidasyonunun azaldığını, katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin korunduğunu, böylece böbreğin reperfüzyon hasarından daha az etkilendiğini bildirmişlerdir.

İskemi reperfüzyon hasarını azaltmak ve önlemek için kullanılan diğer bir yöntem farmakolojik koşullamadır. Bu amaçla farklı ilaçların kullanıldığı birçok çalışma yapılmıştır (12-18).

Deksmedetomidin sedatif, analjezik, antiinflamatuvar, diüretik etkileri olan selektif bir alfa-2 adreno reseptör agonistidir. Deksmetomidinin organ koruyucu etkileri beyin, kalp ve böbrek hasarında araştırılmıştır (19-22).

Deksmedetomidinin üriner outputu artırdığı, idrar osmolalitesini azaltarak prerenal antidiüretik cevabı geri döndürdüğü saptanmıştır (23). Koçoğlu ve ark. (24) sıçanlarda deksmedetomidinin histolojik olarak İR hasarını anlamlı düzeyde azalttığını saptamışlardır. Frumento ve ark. (25) torasik cerrahi geçiren hastalarda deksmedetomidin uygulaması sonrası renal fonksiyonların kontrol grubuna göre daha iyi korunduğunu bildirmişlerdir.

İngilizce yayınlanan literatür taramamızda deneysel İR modelinde deksmedetomidin kullanarak yapılan farmakolojik koşullama ile birlikte uygulanan UIÖK'nin etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu deneysel çalışmanın amacı, sıçan renal İR modelinde, tek taraflı alt ekstremiteye uygulanacak UIÖK ile birlikte deksmedetomidin verilmesinin böbrek hasarına etkisini histopatolojik ve aktif kaspaz 3 immunoreaktivitesini değerlendirerek araştırmaktır.

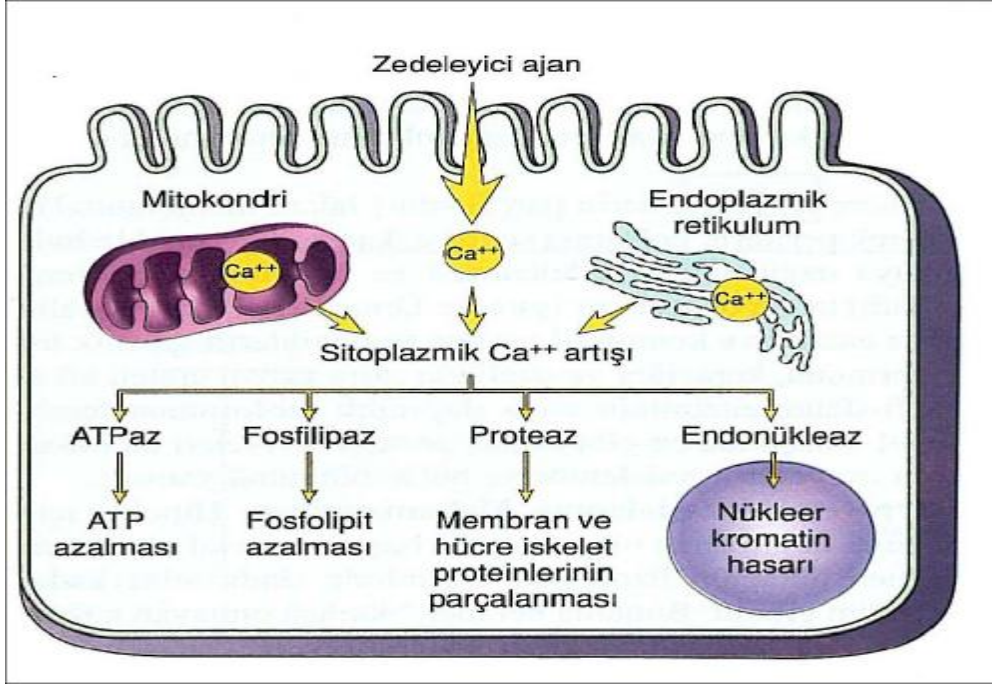
2.GENEL BİLGİLER

2.1 İskemi

İskemi, dokunun kanlanmaması yani oksijen (O₂) ve diğer metabolitlerin dokulara dolaşım tarafından yeterli düzeyde sağlanamaması ve bu süreçte oluşan atık ürünlerin yine dolaşım tarafından uzaklaştırılamaması olarak tanımlanır. Bu durum geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre hasarı ile sonuçlanır (26).

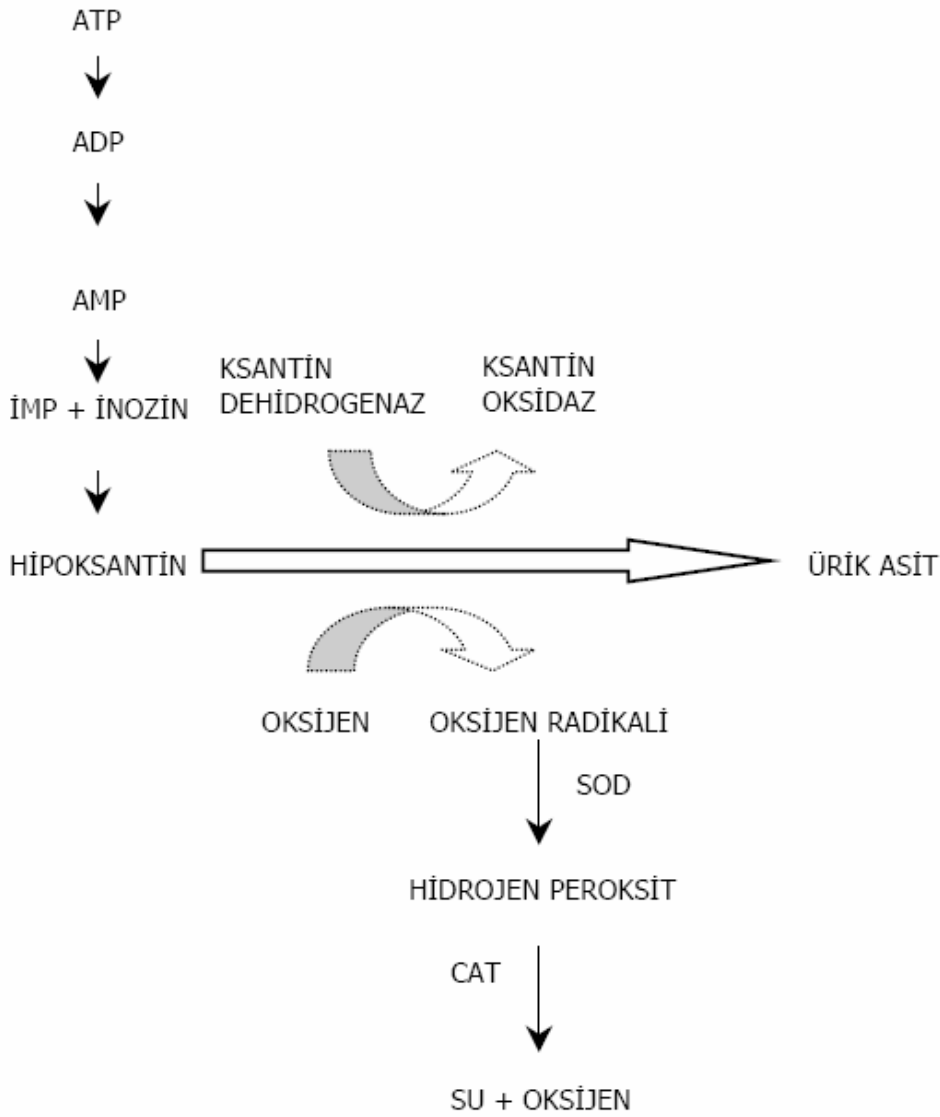
Oksijen hücre fonksiyonlarının devamı için temel gereksinimdir. İskemi sonucu dokulara yeterli O₂ sağlanamaması ile hücre ölümüne kadar giden bir dizi kimyasal olay başlar. Oluşan anaerobik metabolizma ile laktik asit artar ve asidoz normal hücre işleyişini bozarak yüksek enerjili bağların azalmasına ve hücre dengesinin korunması için gereken enerjinin yetersiz kalmasına sebep olur (27,28). Sodyum (Na⁺)/Potasyum (K⁺) pompasının çalışması bozulur. Potasyum iyonları hücre dışına çıkarken Na⁺ ve klor iyonları da hücre içine girerler. Anaerobik glikolizle adenozin trifosfat (ATP) üretilmeye çalışılır. Karbondioksit birikimi karbonik asit (H₂CO₃) üretimi ile sonuçlanır, böylece asidoz artar (29).

Adenozin trifosfat bağımlı çalışan diğer bir pompa ise ekstrasellüler ve intrasellüler kalsiyum (Ca⁺²) dengeleyici pompadır. İntrasellüler Ca⁺² artışı ile proteolitik enzimler ve fosfolipazlar aktive olur. Fosfolipaz A₂ aktivasyonu ile membran fosfolipidleri bozulmaya başlar, plazma ve mitokondriyal membran biyoenerjetikleri ve geçirgenlikleri de değişir (30). Fosfolipaz aktivasyonu araşidonik asit yapımı ile sonuçlanır. Araşidonik asit direkt etkiyle mitokondriyal enzimleri inhibe eder ve serbest radikal oluşumunu artırır (29) (Şekil 1).



Şekil 1: Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının sebepleri ve sonuçları (31).

Hipoksi sırasında ATP üretiminin durmasına rağmen kullanımı devam eder. Yüksek enerjili ATP'nin fosfat bağlarının kopmasıyla adenozin monofosfat (AMP) oluşur ve ATP adenoze kadar indirgenir. Adozin, inozin üzerinden hipoksantine indirgeneceği ekstrasellüler aralığa hızla dağılır (30,32,33). İskemi sonucu yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin yıkımı, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrojenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne yol açar. Adozin A1 reseptörleri üzerinden sinaptik transmisyonu ve presinaptik Ca^{+2} 'nin geçişini inhibe ederek intrasellüler Ca^{+2} artışına neden olur, K^{+} ilişkili glutamat salınımını azaltır (34). Normal şartlarda hipoksantin ürik aside metabolize olur ve bu reaksiyonda elektron alıcı nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu (NAD^{+})'dur. Ancak hipoksi ya da iskemi nedeniyle KDH KO'ya dönüştüğünden hipoksantin ürik aside dönüşümü KO tarafından gerçekleşir ve bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılır (32). Reperfüzyonun başlaması ile KO hipoksantini ksantine, ksantini de ürik aside dönüştürür ve bu sırada serbest oksijen radikalleri oluşur (30,32, 33) (Şekil 2).

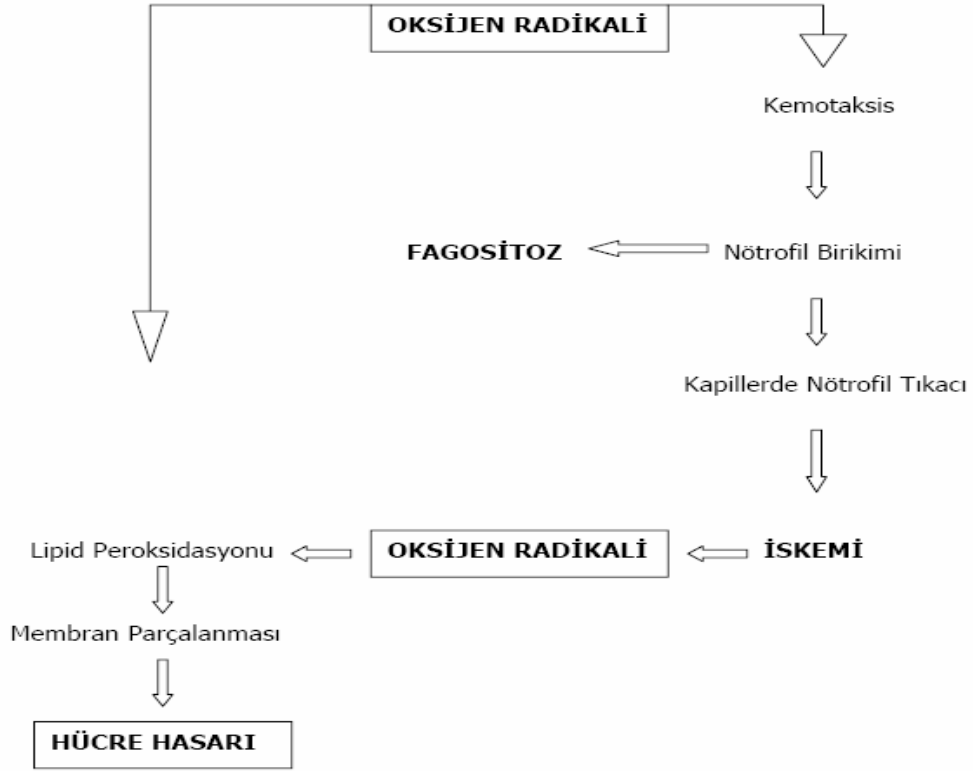


Şekil 2: İskemide pürin metabolizmasının gelişimi ve ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza çevrilmesi, reperfüzyonda oksijen radikalinin oluşumu (35).

ADP: Adenozin Difosfat, SOD: Süperoksit Dismutaz, CAT: Katalaz. AMP: Adenozin Monofosfat, İMP: İnozin Monofosfat

Serbest oksijen radikallerinin ilk oluşumu ve öncüsü genellikle stabil olmayan ve hidrojen peroksit ile oksijene dönüşen süperoksit (O_2^-) radikalidir (27). Fagositoz görevi yapan makrofaj, nötrofil ve monositler tarafından enzimatik olarak üretilirler. Hidrojen peroksit hücre membranlarından kolaylıkla geçebilen, endotelial hücreleri hasarlayabilen güçlü bir sitokindir. Hidroksil radikali bilinen serbest radikaller içinde en güçlü olan ve doku hasarından sorumlu olan radikaldir (36). Bu radikal hidrojen atomlarını hücre membranındaki poliansatüre yağ asitlerinden ayırır, lipid peroksidasyonu ile hücre membranında çözülme ve buna bağlı hücre ölümü olur (37). Hidroperoksil radikali ise O_2^- radikalinin protonlanmasıyla

oluşan ve $O_2^{\cdot-}$ 'den daha güçlü bir ajandır. Biyolojik membranlardan kolay geçer ve yağ asitleriyle direkt olarak reaksiyona girer (38).



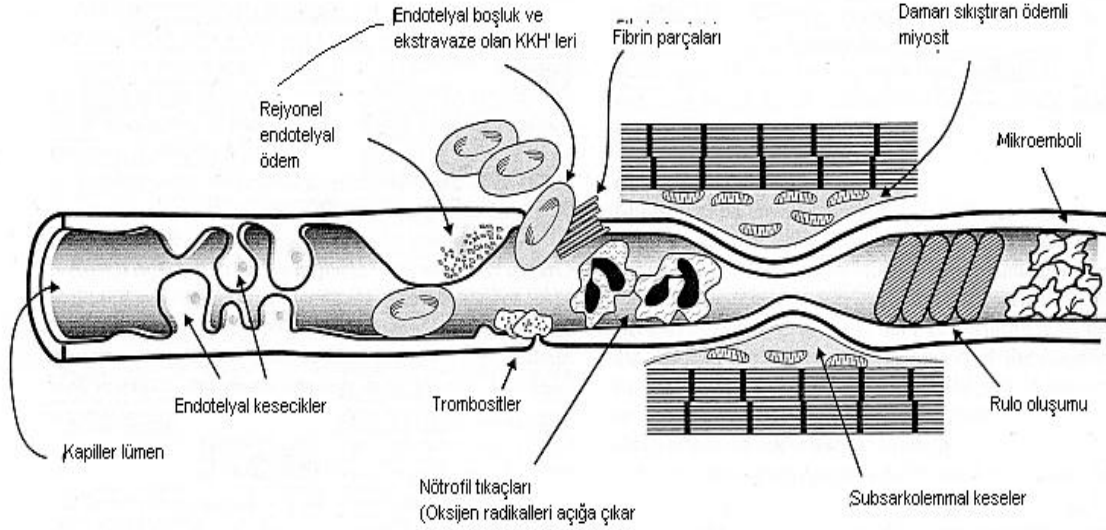
Şekil 3: Serbest oksijen radikallerinin dokudaki doğrudan ve dolaylı etkileri (35).

2.2 Reperfüzyon

İlaçlarla veya mekanik olarak iskemik dokunun kan akımının yeniden sağlanmasına reperfüzyon adı verilir. İskemik dokuda kan akımının yeniden sağlanmasının, enerji gereksiniminin yeniden yapılması ve toksik metabolitlerin ortadan kaldırılması gibi yararlı etkileri olmaktadır (27). Ancak kan akımının tekrar başlaması (reperfüzyon) paradoksal bir şekilde iskeminin oluşturduğu hasarı artırır ve dokuda iskeminin yarattığı hasardan daha fazla hasara da yol açabilir (39,40).

Reperfüzyon hasarından serbest O_2 radikalleri, kompleman (C) sistemi ve lökositler sorumlu tutulmaktadır (5). Reperfüzyon ile dokuya tekrar ulaşan O_2 nedeniyle oluşan toksik O_2 radikalleri, hücre membranında lipid peroksidasyonuna neden olarak direkt hücre hasarına yol açmakta ve araşidonik asit üretimiyle prostoglandin oluşumunu artırarak lökositleri aktive etmektedir (41). Süperoksit radikalleri ile aktive olan lökositler vasküler endotel ile etkileşime girerek transmigrasyonla sonuçlanan yolağı başlatır. Lökosit yüzeyindeki P-selektin glikoprotein I ile endotelial P-selektin etkileşimi lökosit göçündeki ilk adımı oluşturur.

Dokuya gelen aktive lökositler toksik oksijen radikalleri, proteaz, elastaz, kollajenaz, laktoferrin ve katyonik proteinleri açığa çıkarırlar. Bu da mikrovasküler geçirgenlik artışı, ödem, tromboz ve parankimal hücre ölümü ile sonuçlanır (42,43).



Şekil 4: İskemi reperfüzyon sonrası kapiller damardaki değişiklikler (29).

KKH: Kırmızı Kan Hücreleri

Reperfüzyon ile aynı zamanda kompleman sistemi aktive olarak birçok proenflamatuvar mediyatör salınır. En potent mediyatör olan C5a enflamatuvar cevabı artırarak monosit kemoatraktan protein 1, Tümör nekroz faktör (TNF)-alfa, interlökin (IL)-1 ve IL-6 gibi sitokinlerin üretilmesine neden olur. Kompleman 5b-9 kompleksi ise endotel bağımlı relaksasyon ve endotelial siklik guanozin monofosfat (cGMP)'yi azaltarak vasküler tonusu artırır (44).

2.3 Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarı

Böbrek yüksek enerji gereksinimi ve karmaşık mikrovasküler damar ağı nedeniyle İR hasarına çok duyarlıdır. Renal İR hasarı transplantasyon sonrası gecikmiş greft fonksiyonu, şok komplikasyonu ve kardiyak veya aortik cerrahide artmış mortalite ve morbidite ile ilişkilidir (45-48).

İskemik akut renal yetersizlik, yetersiz kan akımı ile başlar. Yetersiz kan akımı da azalmış kardiyak debi yanında renal arter darlığı/tıkanıklığı ya da intrarenal küçük damarların ateroskleroz, ateroemboli, vaskülit gibi nedenlerle hasarlanması sonucu gelişir (49).

İskemik böbrekte vazodilatör maddelerin etkisine karşı bir direnç, vazokonstriktör maddelerin etkisine karşı da aşırı duyarlılık vardır. Oksijenlenmenin bozulması ile artan intrasellüler Ca^{+2} , afferent arteriollerde direnç artışına neden olur (50).

Fizyolojik şartlarda oksijen basıncı korteksten medullaya doğru inildikçe azalır. Böbreğin İR hasarı öncelikle hipoksiye duyarlı olan medulladan başlar. Böbreğin kan akımının büyük kısmı renal korteksten geçer ve renal medullanın kanlanmasını sağlayan vaza rektaya çok az kan gider. Bu da renal medullayı hipoksiye daha duyarlı hale getirir (50,51).

İskemik hasar tübüler disfonksiyona ve Na^{+} geri emiliminde azalmaya neden olur; böylece distal kısımlara giden Na^{+} miktarı artar, glomerüler vazokonstriksiyon ve glomerüler filtrasyonda azalmaya sebep olan tübüloglomerüler *feedback* denilen refleksin aktifleşmesine neden olur. Medüller hipoksi ayrıca hücresel enerji depolarının azalmasına, endotel ve düz kas hücrelerindeki aktin hücre iskeletinin bozulmasına yol açar. Bunların sonucunda hücresel şişme meydana gelir ve çevre dokularda hipoksik etkilenme artar (52).

Apoptozis, organizmada genetik olarak programlanmış bir hücre ölümü şeklindedir. Epitelyal hücrelerdeki apoptoziste iki ana yolak rol oynamaktadır: Ekstresek yolak (ölüm reseptörü yolağı) olarak adlandırılan birinci yolak hücre dışı sinyallerle CD95 ligandına (Fas ligand=CD95) bağlanan TNF-alfa ailesi tarafından uyarılır. Bu yolak kaspaz 3 aktivasyonu üzerinden ikinci yolak olan ve sitokrom-c ile Bcl-2 apoptotik protein ailesinin rol aldığı intrinsek yolak (mitokondriyal yolak) ile birleşerek apoptozisi güçlendirir (53). Renal hasarın bir sonucu olan tübüler hücre apoptozisi renal İR patofizyolojine primer ve major bir katkıda bulunur. Renal İR hasarında enflamasyon ve apoptozis bir arada bulunmaktadır. Hipoksi sırasında intrasellüler Ca^{+2} birikimine bağlı kaspaz aktivitesi artar. Kaspaz iskemik dokuda aktive olur ve iskemik hücre ölümünün bir göstergesidir (54). Kaspaz 3'ün aktifleşmesi hücrenin apoptozise gideceğini gösterir. Kalp yetersizliği, inme ve miyokardiyal İR hasarında aktive olduğu gösterilen kaspaz 3, böbrek İR hasarında da ekspresyonundaki artış ile apoptozisi uyarıcı bir rol oynar (55). İskemik renal hasar sırasında spektrin ve ankirin gibi aktin bağlayıcı proteinler bazolateral membrandan sitoplazmaya yönelir, sonrasında da bu proteinlerin yıkımı artar. Tübüler hücrelerde izlenen bu değişiklikler proksimal tübül hücrelerinin fırçamsı kenarlarının kaybına, hücrelerin bazal membrandan koparak tübül lümenine dökülmesine ve tübül lümeninde tıkanmaya sebep olur (50,52). Oksidatif stres de İR hasarında rol oynayan diğer bir hasar mekanizmasıdır. Tübül hücrelerinin metabolik açıdan

yoğun olmaları nedeniyle İR hasarında mitokondriyal hasar ve intrasitoplazmik Ca^{+2} artar, buna bağlı olarak da oksidatif moleküller fazla miktarda oluşur (50-52).

Preglomerüler vazokonstriksiyon glomerüler filtrasyon hızı (GFH)'nin azalmasındaki en önemli nedendir. Nörohumoral cevabın uyarılması ile renin anjiyotensin aldosteron sistemi aktive olur ve vazopressin salgılanması artar. Glomerüler plazma akımı % 30-50 oranında azalır. Katekolaminler, anjiyotensin II ve endotelin seviyesi artar, bu artış da vazokonstriksiyon gelişimine yol açar (50).

Reperfüzyon sırasında kan akımında % 40-50 oranında azalma görülür. Kan akımındaki bu azalma tam açıklanamamakla birlikte endojen vazokonstriktörlere karşı antagonistler kullanıldığı zaman kan akımının düzeldiği bildirilmiştir. Gelişen interstisyel ödem medulladaki damarlara bası uygulayarak kan akımını bozabilir. Bu durum lökositlerin endotel hücreleri ile karşılaşma olasılığını artırır. Eritrositler ve lökositlerin medullada biriktikleri deney hayvanlarında gösterilmiştir (3,50,56,57). Ayrıca renal İR'ye maruz bırakılan hayvanlarda azalmış GFH'ye glomerüllerde biriken fibrin depozitleri de katkıda bulunur (58,59).

Reperfüzyon sonrası artmış lökosit endotel adezyonu, platelet-lökosit agregasyonu ve azalmış endotel bağımlı relaksasyon mekanik olarak kan akımını azaltabilir (*no reflow fenomeni*). Bu klinik olarak transplante greft veya reperfüze olmuş miyokard iskemisinde devam eden organ disfonksiyonu ile ilişkilidir (60,61).

2.4 İskemik Önkoşullama

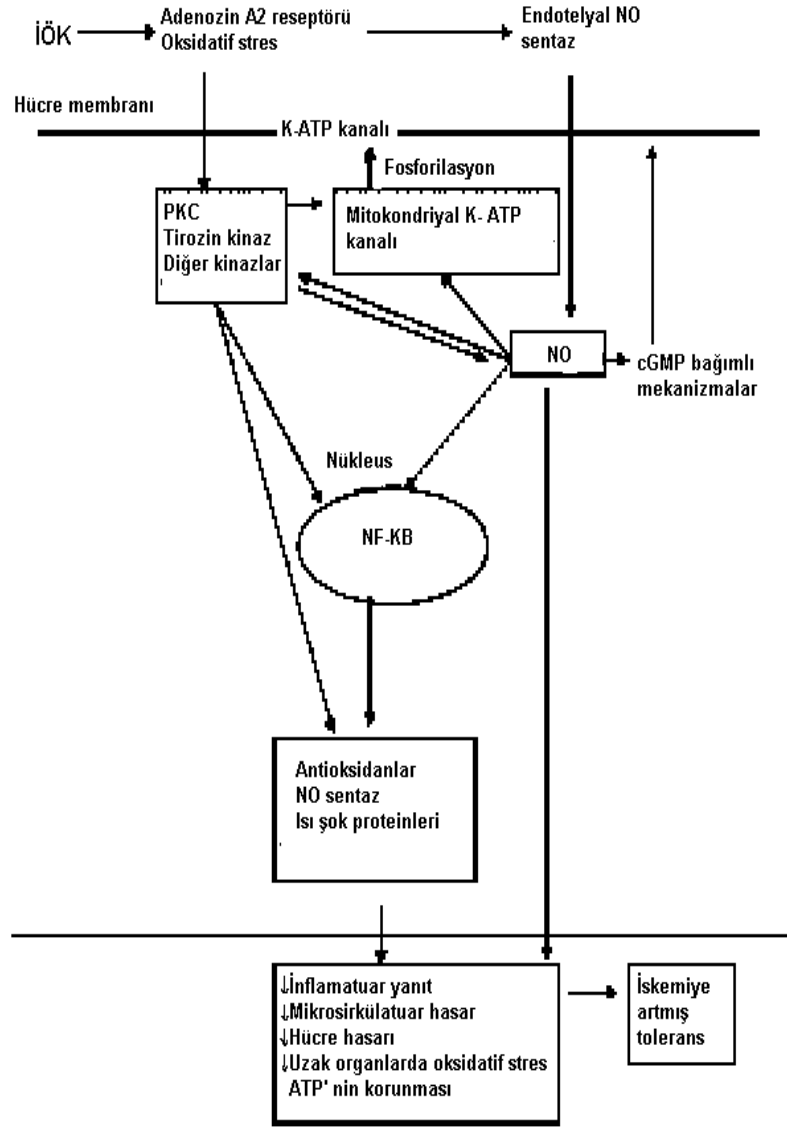
Uzamış iskeminin zararlı etkilerinden korunmak amacıyla dokuların kısa süreli olarak iskemiye maruz bırakılması ile İR sonrası oluşan hasara karşı adaptasyon sağlanmış olur. Bu İÖK olarak adlandırılır (62). İlk kez 1986 yılında Murry ve ark. (7) tarafından kalpte tarif edilmiştir. Kalpte 40 dk.'lik tek bir iskemiye takiben ciddi bir ATP düşüşü ve hücre ölümü olduğu halde, dört kez tekrarlanan 10 dk.'lik İR periyodunun İR hasarını azalttığı gösterilmiştir. Bu koruyucu etkinin mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte takip eden iskemi periyotlarında ilk iskemi dönemine göre ATP düşüşünde azalma olduğu, ayrıca laktat, hidrojen ve amonyak gibi zararlı maddelerin her perfüzyonla birlikte ortamdan uzaklaştırıldığı gösterilmiştir (1,63).

İskemik önkoşullama mekanik veya farmakolojik olarak uygulanabilir. Mekanik olarak yapılan İÖK direkt veya UIÖK şeklinde ikiye ayrılır. Direkt İÖK'de hedef organın

kendisi iskemi süresi öncesinde kısa aralıklarla İR periyotlarına maruz bırakılarak İR hasarından korunmuş olur. Ancak bu yöntemin büyük damarlara travma ve organa stres oluşturması gibi dezavantajları vardır. Uzak İÖK ise hedef organdan farklı bir dokunun kısa aralıklarla İR periyotlarına maruz bırakılarak hedef organın hasardan korunması yöntemidir. Böylece hedef organ direkt olarak strese maruz kalmaz (6).

İskemik önkoşullamanın koruyucu etkisi iskemi süresi ve döngü sayısı ile de ilişkilidir. Kalpte 60 dk.'ye kadar olan iskemide İÖK'nin etkili olup, 90 dk. üzerindeki iskemide etkisi sınırlanmaktadır (64). Döngü sayısı, İÖK'nin oluşturduğu korumanın etkinliği ile ilişkili bulunmuştur. İskelet kasında yapılan çalışmalarda üç döngü ile en iyi sonuç alınmıştır (65). Renal İÖK'de tek olana göre çoklu önkoşullama protokollerinin renal İR hasarına karşı daha iyi koruduğu bildirilmiştir (66). Tam olarak netleşmemekle birlikte İÖK etki mekanizmasında en çok adenosin, protein kinaz C (PKC), ısı şok proteinleri ve nitrik oksit (NO) üzerinde durulmuştur (18).

İskemik önkoşullamanın koruyucu etkisinde fosfolipaz C veya D'nin aktifleşmesini sağlayan adenosin veya alfa-1 adrenerjik reseptör aktivasyonu kritik başlangıç basamağını oluşturmaktadır. Önkoşullamanın akut yararlı etkileri ATP duyarlı K⁺ kanallarının PKC'ye bağımlı fosforilasyonuna bağlıdır. Protein kinaz C bağımlı, 5'nükleotidazın hücre yüzeyine translokasyonu artarak, hücresel adenosin üretimi artar ve hücresel enerji depoları korunur, lökosit tutunması azalır (9). Önkoşullamanın uzamış etkileri ise artmış gen ekspresyonuna bağlı yeni protein (antioksidan enzimler, NO sentaz, ısı şok proteinleri) sentezine bağlıdır (42). İskemik önkoşullamanın hem cGMP, hem de cAMP düzeylerinde artışa neden olduğu gösterilmiş olup, İÖK'de bunların tetikleyici rolleri olabileceği düşünülmüştür (67). Dokuda İÖK sonrası ATP'nin stabil kaldığı, adenosin, ksantin ve inozinin ise arttığı bulunmuştur (68) (Şekil 5).



Şekil 5: İskemik önkoşullamanın mekanizması (18).

PKC: Protein kinaz C, NO: Nitrik oksit, NF-κB: Nükleer Faktör κB

2.4.1 Uzak İskemik Önkoşullama

Bir organın kısa süreli iskemiye maruz bırakılarak diğer organların iskemiye dayanıklı hale getirilmesi UİÖK olarak bilinir (69). Uzak İÖK ilk olarak 1993'te Przyklenk ve ark. (8) tarafından kalpte gösterilmiştir. İskemik önkoşullamanın İR sonrası ventriküler fonksiyonu iyileştirdiği ve miyokardiyal hücre apoptozisini deneysel olarak azalttığı bildirilmiştir (9,10).

Deneyisel ve klinik çalışmalar kalbe uygulanan İÖK'nin kalp dışında akciğer ve diğer organlarda İR hasarını azalttığını göstermiştir (70,71).

Uzak İÖK'nin mekanizmasında adenozin, bradikinin, norepinefrin ve ATP bağımlı K⁺ kanallarının rol oynadığı düşünülmektedir (70,71). Adenozin trifosfat, iki yüksek enerjili fosfatını kaybederek AMP'ye dönüşür. Adenozin monofosfat ise 5'-nükleotidaz enzimi aracılığıyla adenezine yıkılır. Adenozin, A₁ ve A₃ reseptörlerini uyararak PKC aktivasyonuna ve sonrasında sarkolemmal ve mitokondriyal K_{ATP} kanallarının açılmasını sağlayarak İÖK korumasının oluşumuna katkıda bulunur (8,72,73).

2.5 Farmakolojik Koşullama

İskemi reperfüzyon hasarını azaltmak veya önlemek için kullanılan diğer yöntem farmakolojik koşullamadır. Farmakolojik koşullama koruyucu (önkoşullama) ve/veya tedavi edici (ardkoşullama) olarak uygulanabilir (4). Bu amaçla böbrek İR hasarında farklı ilaçların kullanıldığı birçok çalışma yapılmıştır. Aktive protein C, alfa melanosit stimüle edici hormon, statin ve deksmedetomidin gibi ajanların İR hasarını azalttığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (12,13,16).

Farklı birçok farmakolojik ajanın sinyal yollarını farklı noktalarda aktive ettiği ve böylece İÖK'yi taklit ettiği gözlemlenmiştir (74). Bu gözlemler İÖK'nin sağladığı etkileyici korumanın terapötik ajanlarla da sağlanabileceği düşüncesini doğurmuştur (75,76).

2.5.1 Deksmetomidin

Medetomidinin aktif bir dekstro-streoizomeri olan deksmedetomidin, selektif bir alfa 2 adrenoseptör agonistidir (77). Sedatif, analjezik, antiinflamatuvar, diüretik etkileri vardır (19). Alfa 2 reseptörler periferik ve santral sinir sistemi, trombositler, karaciğer, pankreas, böbrek ve gözde bulunur. Sinir sistemindeki reseptörlerin uyarılması ile hipotansiyon, bradikardi, sedasyon ve analjezi oluşur. Diğer organlarda ise salivasyon ve sekresyonda azalma, barsak motilitesinde azalma, renin salınımında inhibisyon, glomerüler filtrasyonda artma, böbreklerden Na⁺ ve su sekresyonunda artma meydana gelir (78).

Deksmetomidinin organ koruyucu etkileri beyin, kalp ve böbrek hasarında araştırılmıştır (19-22). İskemik ve toksik inflamatuvar yanıt modellerinde yapılmış sınırlı sayıdaki çalışmada, deksmedetomidinin antiinflamatuvar etkinlik gösterdiği ve iskemiye karşı koruyucu olduğu belirtilmiştir (79).

Alfa 2 reseptörleri renal parankimal, distal tübüller ve peritübüler vasküler yapılarda yaygın olarak bulunur (4). Alfa 2 reseptör agonistleri klinik olarak perioperatif böbrek fonksiyonunu ve üriner akımı iyileştirir (25,80).

Hayvan çalışmalarında alfa 2 adreno reseptör agonistlerinin renoprotektif etkilerinin olduğu gösterilmiştir (4,20,25,81,82). Deksmetomidinin üriner outputu artırdığı, idrar osmolalitesini azaltarak prerenal antidiüretik cevabı geri döndürdüğü saptanmıştır (23).

Deksmetomidinin renal hasarı önleyici mekanizması kesinlik kazanmamakla birlikte böbreklerden presinaptik noradrenalin salınımının azalmış olması, strese bağlı olarak artan dolaşımdaki noradrenalin düzeylerinin düşmesi ile sağlanan glomerüler filtrasyon ve renal kan akımındaki düzelmeye etkili olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Deksmetomidin cerrahi sırasında uygulandığında plazma katekolamin düzeylerini düşürmekte, hemodinamik stabilite sağlamak ve idrar debisini artırmaktadır (83-87).

3.GEREC VE YÖNTEM

Çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı (Ek 1) alındıktan sonra Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmada ağırlıkları 250-300 g arasında değişen 28 adet *Wistar* albino cinsi erişkin erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar araştırma başlangıcına kadar oda sıcaklığında (21-22 °C) % 40-60 nisbi nemde 12 saat aydınlık - 12 saat karanlık ortamda tutulup standart pellet yemi ve suyla beslendi. Herhangi bir yem ve su kısıtlamasına gidilmedi.

3.1 Anestezi Uygulaması

Anestezi intraperitoneal (ip) 50 mg/kg ketamin (Ketalar flk., *Pfizer Pharma GMBH, Germany*) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorid (Alfazyne % 2, *Alfasan International, Holland*) ile sağlandı. Gerekliğinde sıçanların anestezi derinliğini sabit tutmak için ketamin (yarı dozda, 25 mg/kg) refleks yanıtına (pensetle ayağa ağırlı uyaran verilmesi-pedal refleksi, palpebral ve korneal refleksler) bakılarak tekrarlandı.

3.2 Deney Grupları ve Protokol

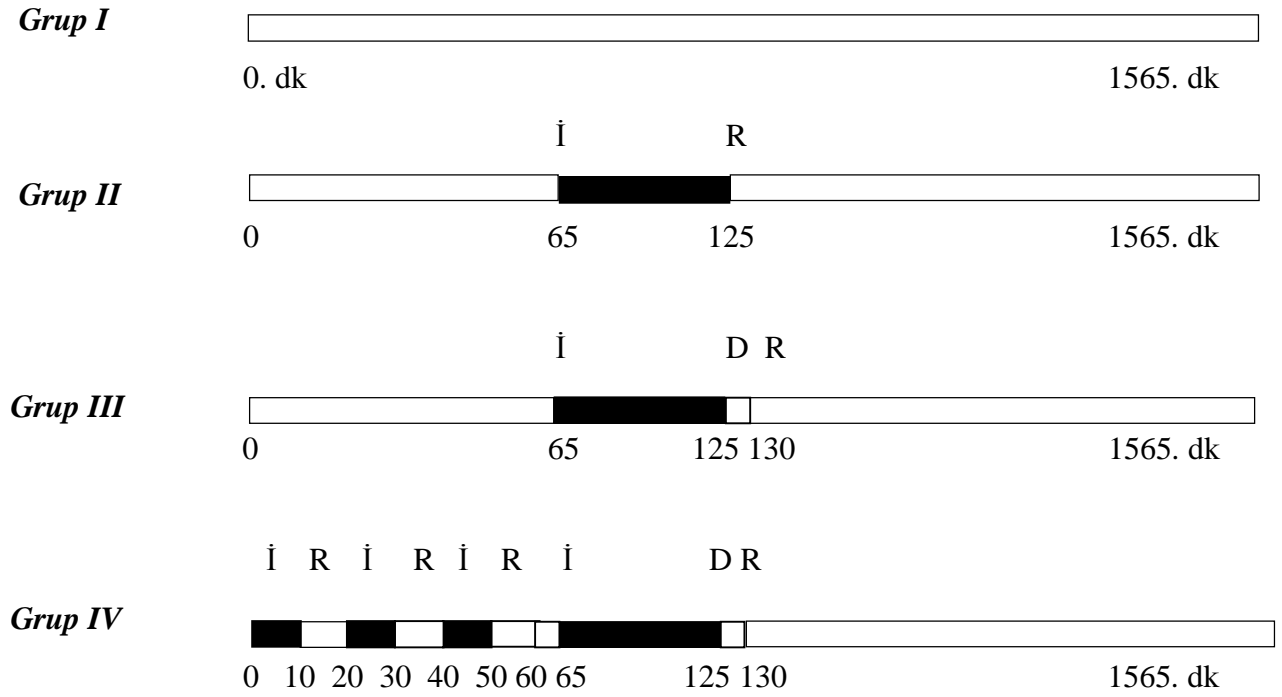
Grup I (Sham,n=7): Laparotomi sonrası anestezinin 65. dk.'sinde sol ve sağ böbrek pedikülü açığa çıkarıldı. Başka bir girişim yapılmadan sıçanlar 130 dk. anestezi altında bekletildi.

Grup II (İR,n=7): Grup I'deki gibi laparotomi sonrası anestezinin 65. dk.'sinde sol ve sağ renal pedikül açığa çıkarılarak her iki pediküle klemp konuldu, 60 dk. iskemi uygulanıp ardından klemp açılarak 24 saat reperfüzyon yapıldı.

Grup III (İR+Deksmedetomidin,n=7): Laparotomi sonrası anestezinin 65. dk.'sinde sol ve sağ renal pediküle klemp konularak 60 dk. iskemi uygulandı ardından klemp açılarak reperfüzyonun 5. dk.'sinde 100 mcg/kg ip deksmedetomidin (Precedex 100 mcg/2 ml flk., *Abbott Laboratory, Illinois, USA*) verildi ve 24 saat reperfüzyon yapıldı.

Grup IV (İR+UIÖK+Deksmedetomidin,n=7): Laparotomi sonrası sol arka bacağına 10 dk. iskemi ve 10 dk. reperfüzyon 3 döngü halinde uygulandıktan 5 dk. sonra (toplam 65 dk. sonra) sol ve sağ renal pediküle klemp konularak 60 dk. iskemi uygulandı ardından klemp açılarak reperfüzyonun 5. dk.'sinde 100 mcg/kg ip deksmedetomidin (Precedex 100 mcg/2 ml flk., *Abbott Laboratory, Illinois, USA*) verildi ve 24 saat reperfüzyon yapıldı (Şekil 6).

Grup I’de renal pediküllerin açığa çıkarılması, Grup II ve III’te iskemi uygulamasının anestezinin 65. dk.’sinde başlanmasının amacı tüm grupları Grup IV’deki önkoşullama süresine eşitlemek ve işlemlerin başlangıcını standartize etmektir. Doku örnekleri reperfüzyonun 24. saatinde alındı.



Şekil 6: Deney protokolünün şematik görünümü.

İ => İskemi

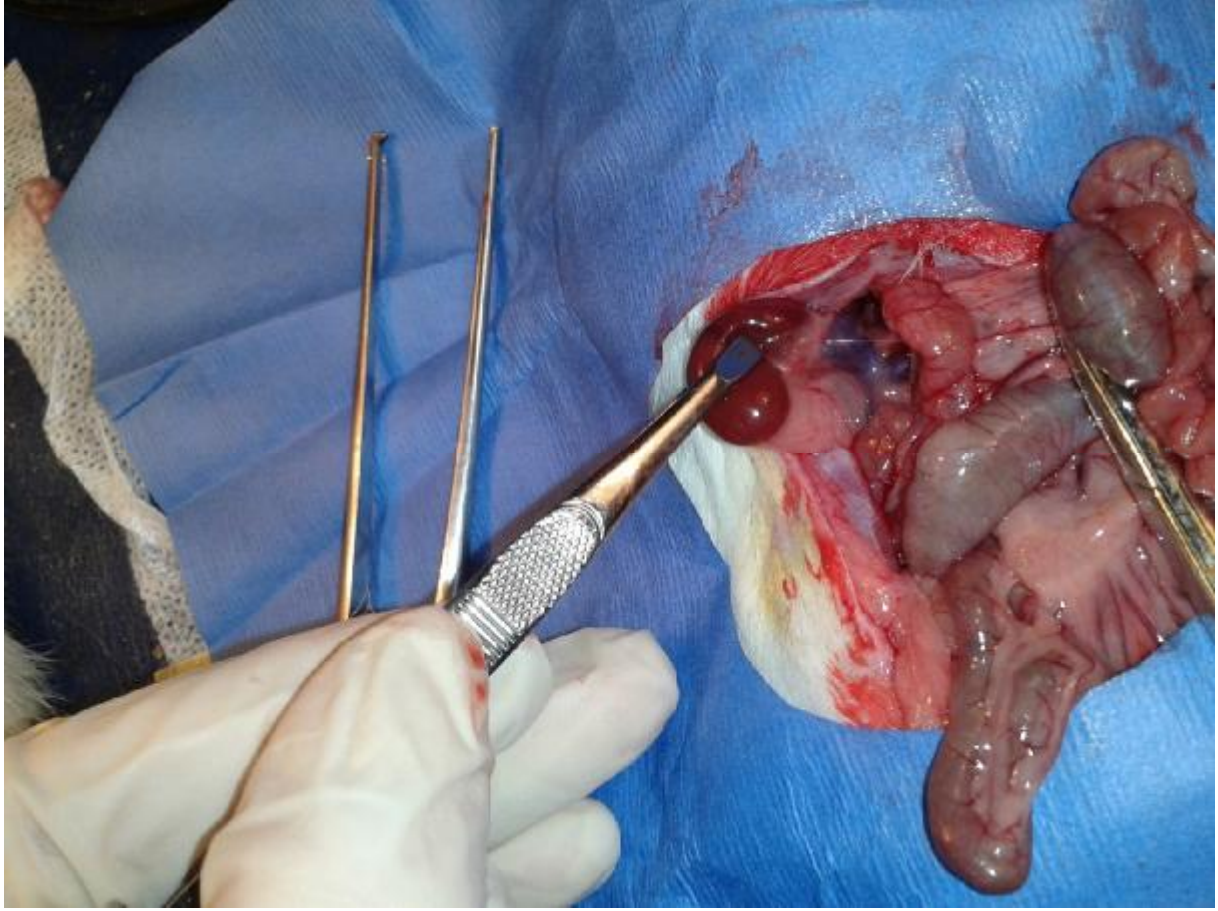
R => Reperfüzyon

D => Deksmetomidin

3.3 Deneysel Çalışma Modeli

Tüm sıçanlar anestezi uygulamasından sonra supin pozisyonda operasyon masasına sabitlenerek abdomen orta hat insizyonu ile açıldı, sol ve sağ böbrek açığa çıkarıldı (Resim 1) ve renal pediküller diseke edildi. Sıçanları hipotermiden korumak için çalışma süresince operasyon masası ısıtıcı bir lamba ile ısıtıldı ve rektal prob ile ölçülen vücut sıcaklığı 37-37,5 °C arasında tutuldu. Dehidratasyonu önlemek amacıyla subkutan serum fizyolojik solüsyonu

saat başı 3 ml/kg dozda uygulandı. Bekleme süreleri boyunca batın ıslak steril tamponlar ve cerrahi pens ile kapatıldı.



Resim 1: Renal pediküllerin açığa çıkarılması.

Böbrek iskemi reperfüzyon modeli

Sol ve sağ böbrek total iskemisi; atravmatik mikrovasküler klemp ile renal pediküller sıkıştırılarak oluşturuldu. Yeterli oklüzyon renal pediküllerde pulsasyon olmaması ve böbreklerde solukluk oluşması ile doğrulandı (Resim 2). İskemi süresi tamamlandıktan sonra mikrovasküler klemler serbestleştirilip reperfüzyon sağlandı.



Resim 2: Sıçanın böbrek kan akımının kesilmesi.

Uzak iskemik önkoşullama modeli

Uzak iskemik önkoşullama amacıyla turnike etkisi için; daha önceki tez çalışmaları ve yayınlarda kullanılmış, etkinliği perfüzyon sintigrafisi ve lazer akımölçerle gösterilmiş olan yöntem kullanıldı (88,89). Bu amaçla sıçanın sol arka bacağı kasık bölgesinden elastik bandaj (1 cm eninde ve 30 cm uzunluğunda) ile çepeçevre basınç uygulanarak sıkıldı. Üç döngü halinde 10 dk. iskemi oluşturulup takiben 10 dk. reperfüzyon sağlandı. Kan akımının kesilmesi lazer akımölçer (*Laser Flo BPM2, Vasamedic, USA*) ile doğrulandı (Resim 3-4).



Resim 3: Sıçanda bacak kan akımının lazer akımölçerle gösterilmesi.



Resim.4: Sıçanın bacak kan akımının kesildiğinin lazer akımölçerle gösterilmesi.

Tüm gruplarda total çalışma süresi sonunda histomorfolojik inceleme için anestezi altında sol böbrek çıkarıldı ve sıçanlar *eksanguinasyon* yöntemi ile (kardiyak *puncture*) sakrifiye edildi. Doku örnekleri % 10'luk tamponlu formaldehid içinde fikse edilip böbrek hasarı histolojik olarak değerlendirildi.

Deksmetomidin ile farmakolojik koşullama yöntemi

Laparotomi sonrasında anestezinin 65. dk'sinde sol ve sağ renal pediküle klemp konarak 60 dk. iskemi uygulandı. Ardından klemp açılarak reperfüzyonun 5. dk.'sinde 100 mcg/kg deksmedetomidin (Precedex 100 mcg/2 ml flk., *Abbott Laboratory, Illinois, USA*) ip verildi.

3.4 Histomorfolojik İncelemeler

Böbrek doku örnekleri DEÜTF Histoloji-Embriyoloji AD laboratuvarında incelendi.

Işık mikroskopik doku takip protokolü

Böbrek doku örnekleri % 10'luk tamponlanmış nötral formalin solüsyonu içerisinde üç gün süreyle tespit edilerek rutin doku takip işlemi başlatıldı. Tespit maddesinin uzaklaştırılması için bir gece akar su altında yıkandıktan sonra, 60 °C'de etüvde 20'şer dk. sırasıyla % 70, % 80, % 96 şeklinde artan etil alkol serilerinden geçirildi. Daha sonra 60 °C'de etüvde 20'şer dk. dört değişim asetonda dehidrate edildi. Şeffaflandırma amacıyla 60 °C'de etüvde 30'ar dk. iki kez ksilolde bekletildi. 60 °C'lik etüvde iki değişim halinde birer saat parafin ile immersiyonu sağlanarak parafin bloklar içerisine gömüldü. *Rotary* mikrotom (RM 2255, *Leica, Köln, Germany*) aracılığı ile 4 µm'lik kesitler alındı.

Hematoksilen-Eozin boyaması

Alınan kesitler deparafinizasyon işlemi için iki saat 60 °C'lik etüvde bırakıldı. Ardından ilki 20 dk. (etüvde) diğer ikisi 10'ar dk.'lik üç farklı ksilene tabi tutuldu. Daha sonra rehidratasyon işlemi için iki değişim absölu alkol ve % 96'dan % 70'e azalan alkol serilerinden geçirildi. Kesitler distile su ile çalkalandıktan sonra 10 dk. Hematoksilen (01562E, *Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire*) ile boyandı. Boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 10 dk. akar suda yıkanan kesitler, iki dk. Eozin (01603E, *Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire*) boyası ile boyandı. Boyamadan sonra sırasıyla % 70, % 80, % 96 ve iki seri absölu alkol serilerinden geçirilen kesitler şeffaflştırma amacıyla 20'şer dk. üç değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN1866, *Merck, Darmstadt, Germany*) ile kapatıldı.

Böbrek dokusunun histomorfolojik değerlendirilmesi

Elde edilen kesitler boyama işleminden sonra ışık mikroskopik olarak incelendi (*Olympus BX-50 Tokyo, Japan*) ve kesitlerden elde edilen görüntüler yüksek rezolüsyonlu bir kamera (*Olympus DP-71, Japan*) içeren bilgisayara aktarılarak dijital olarak fotoğrafları çekildi. Çekilen dijital fotoğraflar dijital görüntü analiz programı (*UTSCSA; Image tool version 3,0, for Windows, Texas, USA*) ile değerlendirildi.

Böbrek dokusunu değerlendirmek için boyanan kesitlerde, farklı büyütmelerde denek başına üç birbiriyle örtüşmeyen böbrek kesitinin bulunduğu en az 30 böbrek alanı incelendi. İskemi reperfüzyon uygulanan böbrek dokusu kesitleri ışık mikroskopunda proksimal tübüslardaki yapısal değişiklikler (tübüler atrofi, tübüler fırçamsı kenar kaybı, vakuolizasyon, tübüler dilatasyon, kast formasyonu), mononükleer hücre (MNH) infiltrasyonu, interstisyel alandaki yapısal değişiklikler, renal korpüskül morfolojisi, nekrotik ve apoptotik hücreler açısından DEÜTF Histoloji ve Embriyoloji AD’de görevli iki histolog tarafından kör olarak değerlendirildi. Kesitlerden elde edilen görüntüler semikantitatif olarak tübülointerstisyel hasar yönünden skorlandı. Skorlama 0 = hiç yok, 1 = % 0-25, 2 = % 26-45, 3 = % 46-75, 4 = % 76-100 olarak uygulandı (90).

İmmünohistokimyasal yöntem

Böbrek dokusu % 10’luk tamponlu formaldehitte fiske edildikten sonra rutin histolojik takip işlemlerinin ardından parafine gömülen böbrek dokusundan mikrotom yardımıyla 3 µm kalınlığında kesitler *poly-l-lysin* ile kaplı lamlara alındı. Örnekler 12 saat 60 °C etüvde bekletildi, sonrasında, anti-kaspaz-3 immünreaktivitesinin gösterilmesi amacıyla sıçan spesifik anti-kaspaz-3 monoklonal antikoru (RB-10287-R7, *Labvision*) kullanıldı. Endojen peroksidaz aktivitesi, hidrojen peroksidazın alkol içindeki % 3’lük çözeltisi kullanılarak engellendi. Lizinli kesitler anti-kaspaz-3 antikoru ile bir gece +4 °C’de bekletildikten sonra biyotinlenmiş sekonder antikor ile 30 dk. enkübe edildi. Sekonder antikor *Vector Elite ABC* kit (*Vector Laboratories Inc. Burlingame, USA*) ile bağlandıktan sonra antikor-biyotin-avidin-peroksidaz kompleksi % 0.02’lik 3,3’diaminobenzidine solüsyonu kullanılarak görünür hale getirildi. *Mayer’s hematoxilen* ile zemin boyaması yapıldıktan sonra kesitlerde görüntü analizleri yapıldı.

Uygun doku kesitleri primer ve sekonder antikor için ayrıca pozitif ve negatif kontrol olarak aynı işlemde geçirildi. İmmünohistokimyasal skorlama için onluk büyütmede birbiriyle örtüşmeyen on alan rastgele yöntemle seçildi. Pozitif boyanmanın derecesi,

yoğunluk ve dağılım açısından 1'den 4'e kadar olan bir gösterge çizelgesi kullanılarak semikantitatif skora ile değerlendirildi.

3.5 Dışlama Kriterleri

Resüsitasyon gereksinimi olan sıçanların çalışma dışı bırakılması planlandı.

3.6 İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme için *Statistical Package of Social Sciences 15 (SPSS 15.0, Chicago, IL, USA)* programı kullanıldı. Verilerin analizinde *Kruskal-Wallis* varyans analizi uygulandı. Grupların ikili karşılaştırmaları için *Mann-Whitney U* testi kullanıldı. Tüm veriler ortalama \pm standart sapma (ort \pm SS) olarak sunuldu. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirilen çalışmaya toplam 28 sıçan dahil edildi ve İR grubundan bir sıçan reperfüzyon döneminde *exitus* olduğu için çalışma dışı bırakıldı. Çalışma gruplarının histomorfolojik hasar skorları Tablo 1’de sunuldu.

Tablo 1. Gruplara ait histomorfolojik hasar skorları

	MNHİ	TD	GD	HTS
GRUP I (n=7) Sham	0,14±0,38	0,0±0,0	0,0±0,0	0,28±0,48
GRUP II (n=6) İR	1,0±0,63	1,67±0,82	0,50±0,55	3,83±2,22
GRUP III (n=7) İR+Deks	0,28±0,49	0,71±0,75	0,0±0,0	1,42±1,27
GRUP IV (n=7) İR+UIÖK+Deks	0,28±0,49	0,71±0,75	0,0±0,0	1,42±1,61
p^a	0,04*	0,00*	0,01*	0,008*

Veriler ort±SS olarak sunuldu; *p< 0,05: Gruplar arasında anlamlı fark; ^a Kruskal Wallis testi

MNHİ: Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu

TD: Proksimal Tübüluslarda Yapısal Değişiklikler

GD: Glomerüler Değişiklikler

HTS: Histolojik Toplam Hasar Skoru

Tablo 2. Gruplara ait immunhistokimyasal hasar skorları

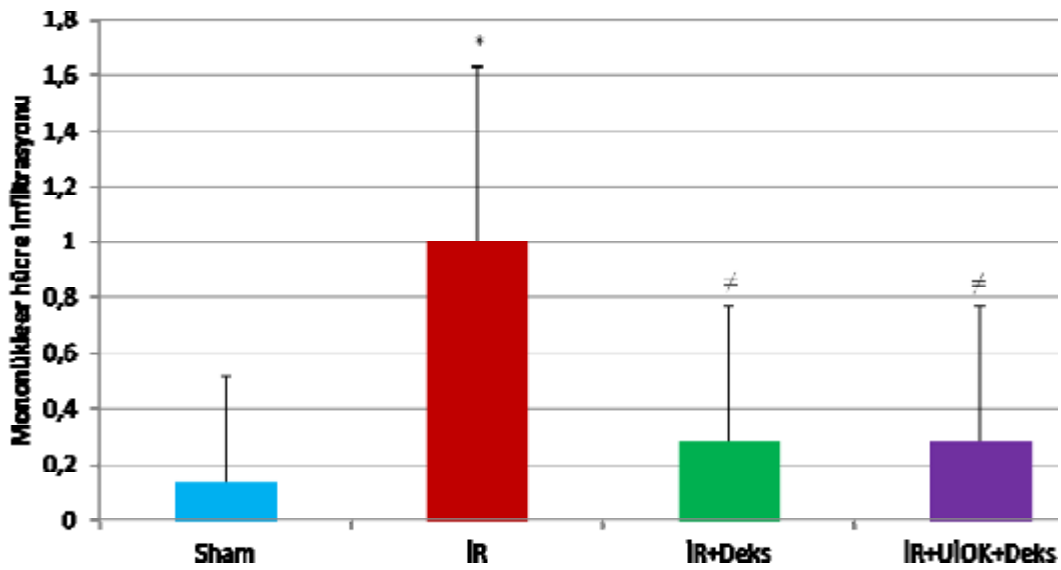
GRUP I (n=7) Sham	0,85±0,37
GRUP II (n=6) İR	2,50±0,54
GRUP III (n=7) İR+Deks	1,71±0,75
GRUP IV (n=7) İR+UIÖK+Deks	1,42±0,53

Veriler ort ± SS olarak sunuldu

4.1 Böbrek Histomorfolojik Hasar Skoru

Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu

Sham grubu histomorfolojik hasar skorları İR grubundan anlamlı olarak düşük bulundu ($p=0,01$). İskemi Reperfüzyon grubu hasar skorları, İR+Deks ve İR+UİÖK+Deks grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek saptandı (sırasıyla, $p=0,04$, $p=0,04$). İR+Deks ve İR+UİÖK+Deks grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı ($p=1,00$).



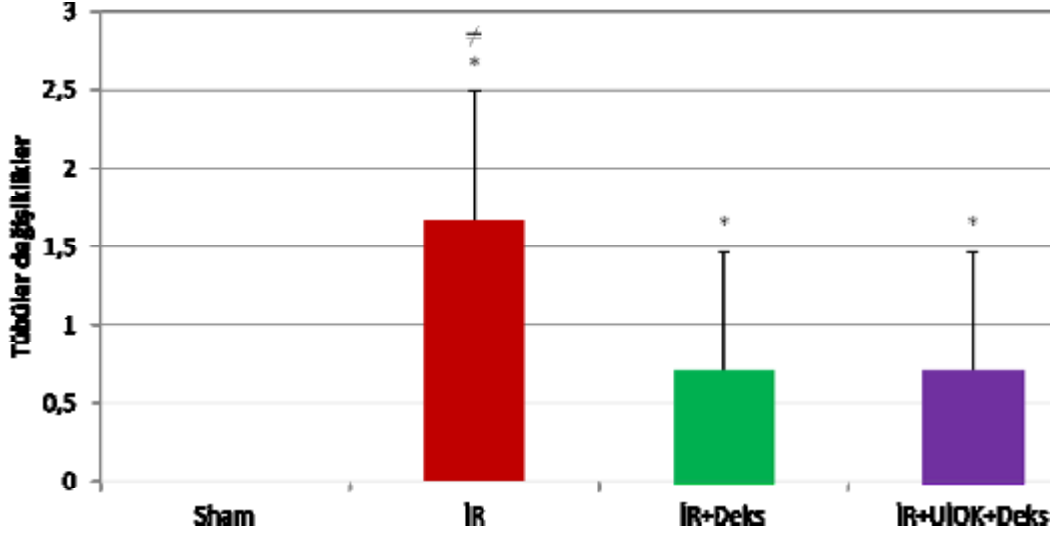
Grafik 1: Böbrek histomorfolojik incelemesinde mononükleer hücre infiltrasyon skorları.

* İR grubu ile *Sham* grubu karşılaştırıldığında ($p=0,01$)

≠ İR+Deks grubu ve İR+UİÖK+Deks grubu ile İR grubu karşılaştırıldığında ($p<0,05$)

Proksimal tübüluslarda yapısal değişiklikler

Sham grubu histomorfolojik hasar skorları İR, İR+Deks ve UİÖK+İR+Deks gruplarından anlamlı olarak düşük bulundu (sırasıyla, $p=0,00$, $p=0,02$, $p=0,02$). İskemi Reperfüzyon grubu ile İR+Deks ve İR+UİÖK+Deks gruplarının skorları karşılaştırıldığında İR grubunda anlamlı yükseklik saptanırken (sırasıyla, $p=0,05$; $p=0,05$), İR+Deks ve UİÖK+İR+Deks grupları arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=1,00$).



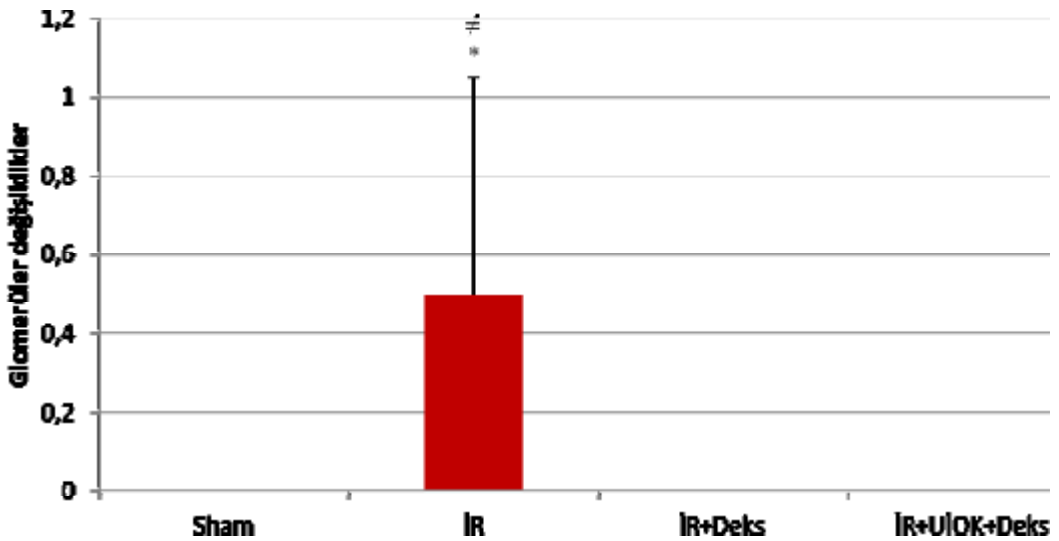
Grafik 2: Böbrek histomorfolojik incelemesinde tübüler değişiklik hasar skorları.

* İR, İR+Deks, İR+UIÖK+Deks grupları *Sham* grubu ile karşılaştırıldığında ($p < 0,05$)

≠ İR grubu, İR+Deks, İR+UIÖK+Deks grupları ile karşılaştırıldığında ($p = 0,05$)

Glomerüler değişiklikler

Sham grubu histomorfolojik hasar skorları İR grubundan anlamlı olarak düşük bulundu ($p = 0,04$). İskemi Reperfüzyon grubu ile İR+Deks ve İR+UIÖK+Deks gruplarının skorları karşılaştırıldığında İR grubunda anlamlı yükseklik saptanırken (sırasıyla, $p = 0,04$, $p = 0,04$) İR+Deks ve İR+UIÖK+Deks grupları arasında anlamlı fark saptanmadı ($p = 1,00$).



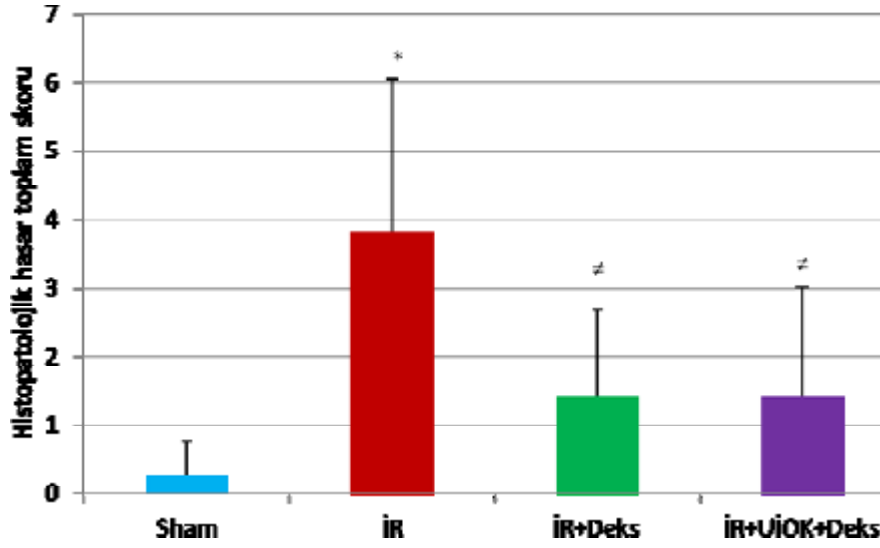
Grafik 3: Böbrek histomorfolojik incelemesinde glomerüler değişiklik hasar skorları.

* İR grubu ile *Sham* grubu karşılaştırıldığında ($p < 0,05$)

≠ İR grubu, İR+Deks ve İR+UIÖK+Deks grupları ile karşılaştırıldığında (p<0,05)

Histopatolojik toplam hasar skorları

Sham grubu histomorfolojik hasar skorları toplamı İR grubundan anlamlı olarak düşük bulundu (p=0,003). İskemi Reperfüzyon grubu ile İR+Deks ve İR+UIÖK+Deks gruplarının skorları karşılaştırıldığında İR grubunda anlamlı yükseklik saptanırken (sırasıyla, p=0,03, p=0,05) İR+Deks ve İR+UIÖK+Deks grupları arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,79).



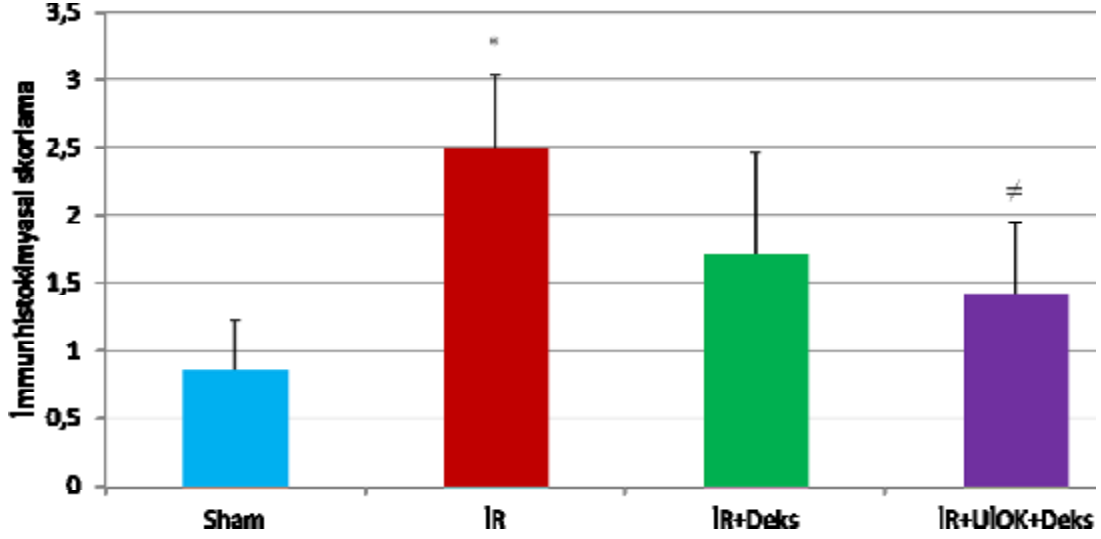
Grafik 4: Böbrek histomorfolojik incelemesinde histopatolojik toplam hasar skorları.

* İR grubu ile *Sham* grubu karşılaştırıldığında (p< 0,01)

≠ İR+Deks, İR+UIÖK+Deks grupları ile İR grubu karşılaştırıldığında (p<0,05)

İmmunhistokimyasal skorlama

İskemi Reperfüzyon grubunda immunhistokimyasal hasar skorları *Sham* grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,001). İskemi Reperfüzyon ve İR+Deks grubunun hasar skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0,06). İskemi Reperfüzyon+UIÖK+Deks grubu ile İR gruplarının hasar skorları karşılaştırıldığında İR+UIÖK+Deks grubunda fark anlamlı olarak düşük bulundu (p=0,01). İskemi Reperfüzyon+Deks ile İR+UIÖK+Deks gruplarının hasar skorları arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,47).



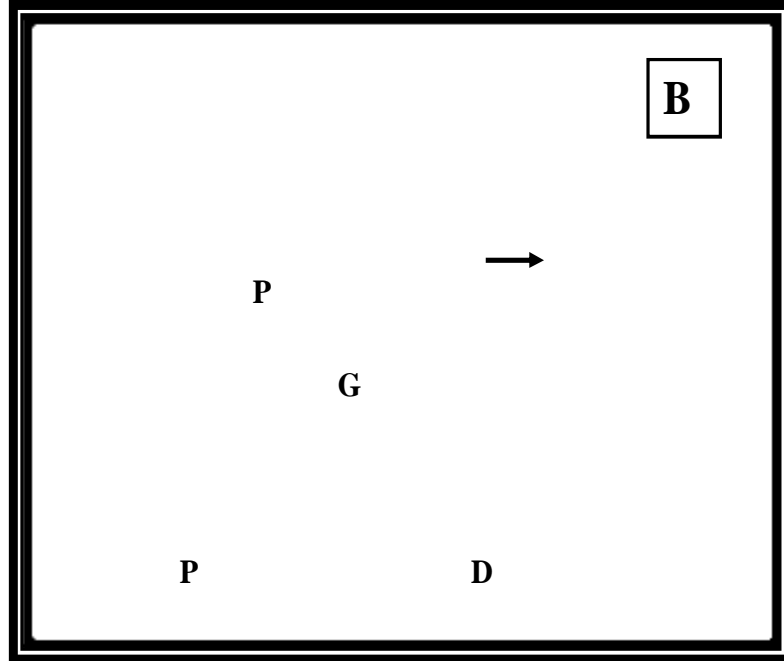
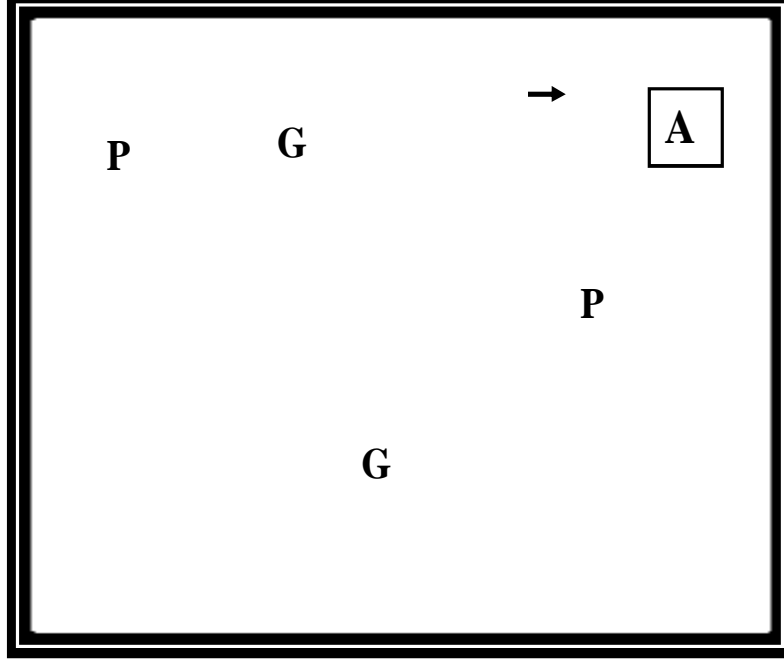
Grafik 5: Böbrek immunohistokimyasal skora.

* İR grubu ile *Sham* grubu karşılaştırıldığında ($p < 0,01$)

≠ İR+UİÖK+Deks grubu ile İR grubu karşılaştırıldığında ($p = 0,01$)

Sham grubuna ait böbrek kesitleri incelendiğinde, böbrek dokusuna ait korteks ve medulla ayrımının rahatlıkla yapılabildiği, korteksin dışında fibröz kapsülün sağlam olarak yer aldığı gözlemlendi. Kortekste renale korpusküllerin normal yapıda olduğu, *Bowman* kapsülünün pariyetal ve visseral yaprağının normal histolojik yapıda olduğu belirlendi. Proksimal tübül ve distal tübül, henle kulbu, kollektör tübüllerde yapıların normal olduğu gözlemlendi. Epitel hücreleri karakteristik yapı ve özelliklerini korumaktaydı. *Sham* grubunda normal morfolojik özellikler gözlemlendi. *Sham* grubuna ait kesitlerde herhangi bir hücre infiltrasyonu ve fırçamsı kenar kaybı gözlemlenmedi (Resim 5A-5B).

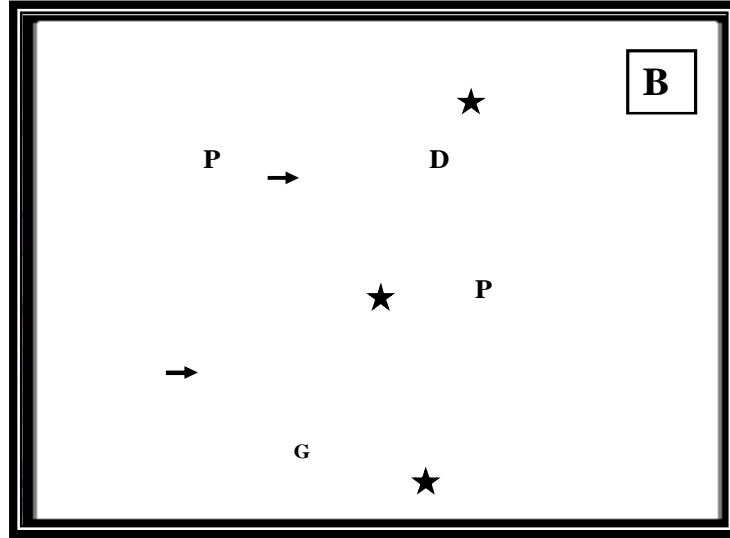
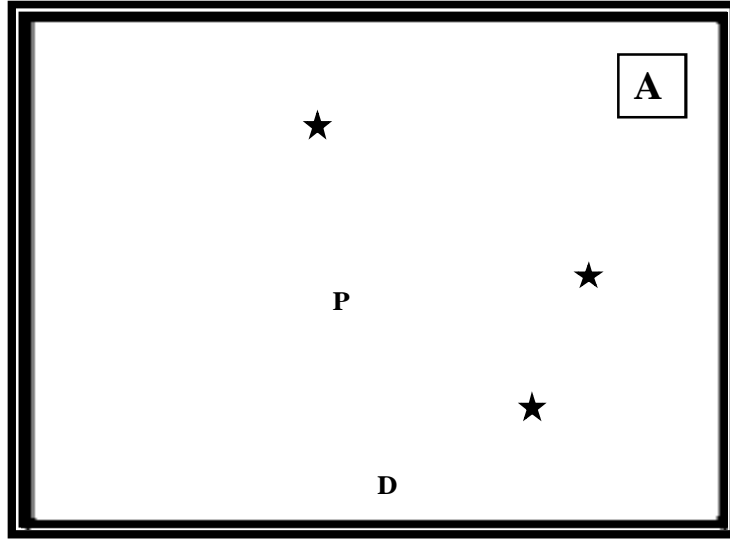
Grup I



Resim 5A-5B: *Sham* grubuna ait kesitler. **G:** glomerül, **P:** proksimal tübül, **D:** distal tübül, (**→**): fırçamsı kenar.

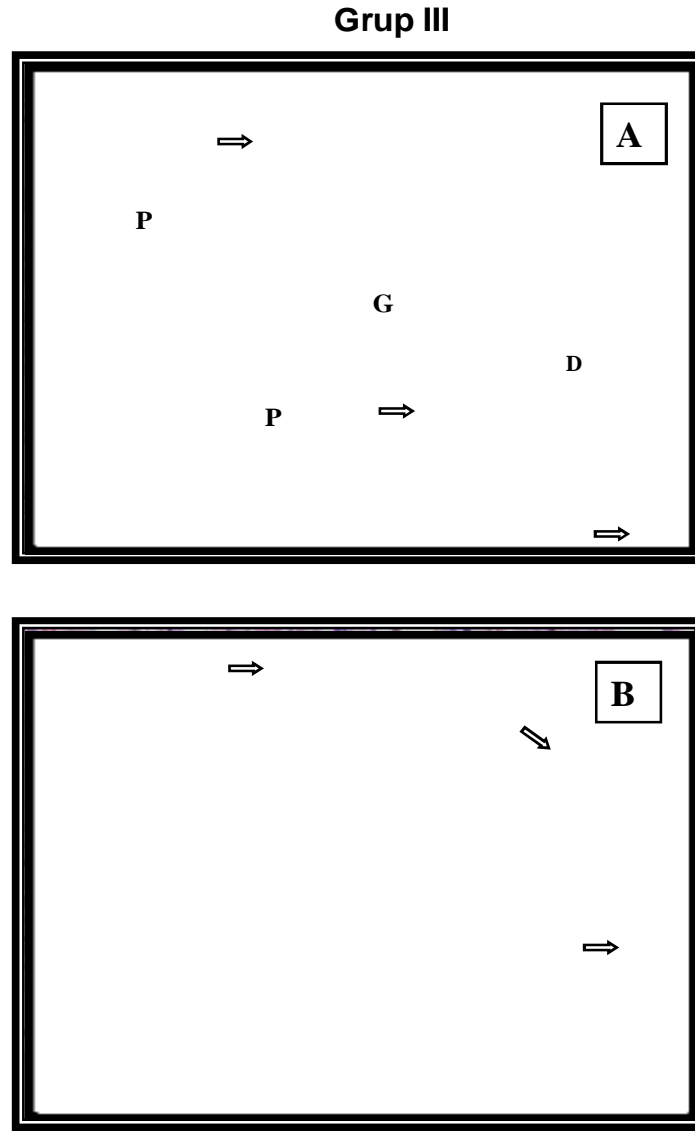
İskemi reperfüzyon grubunda ise kortikal bölgede daha fazla olmak üzere peritübüler alanda mononükleer hücre infiltrasyonu, proksimal tübül hücrelerinde fırçamsı kenar kaybı, tübüler atrofi, tübüler dilatasyon ve vakuolizasyon gözlemlendi. Bazı tübüllerde proteinöz madde birikimi ile birlikte kast formasyonu ve tübül lümeninde hücre debrisleri izlendi (Resim 6A-6B).

Grup II



Resim 6A-6B: İR grubuna ait kesitler. **G:** glomerül, **P:** proksimal tübül, **D:** distal tübül, (→): tübüllerde proteinöz madde birikimi, (★) lümene dökülmüş proksimal tübül epitel hücreleri.

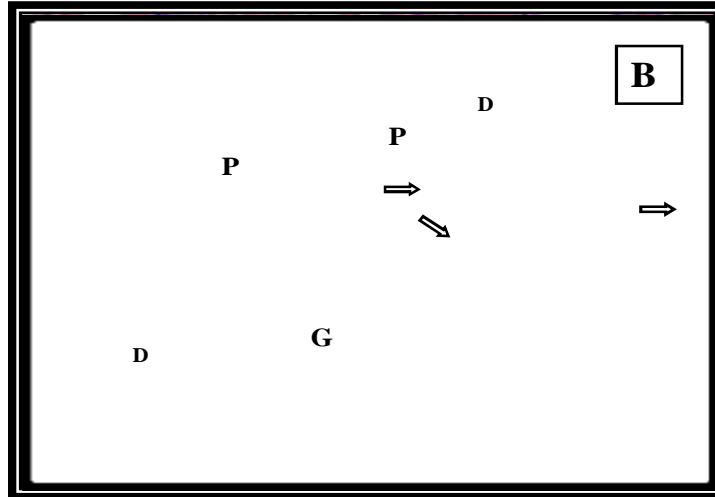
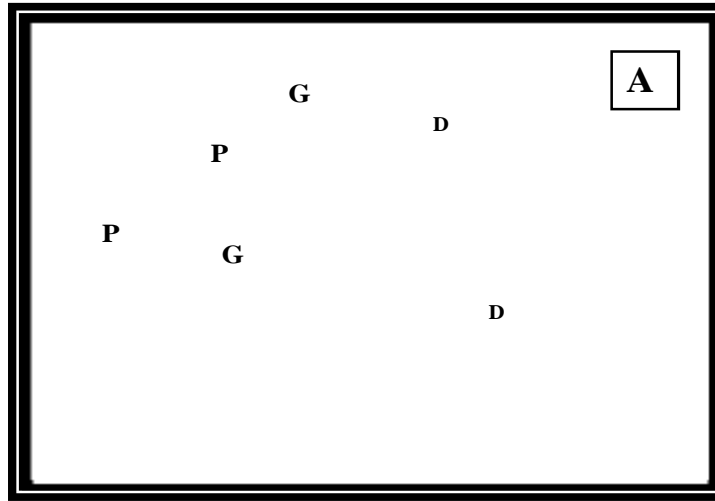
İskemi Reperfüzyon+Deks grubunda ise kortikal bölgede özellikle peritübüler alanda mononükleer hücre infiltrasyonunda ve tübül hücrelerinde gözlenen dejenerasyonlarda İR grubuna göre azalma gözlemlendi. İskemi Reperfüzyon+Deks grubunda mikroskopik alanlarda, tübülüslerde gözlenen fırçamsı kenar kaybı, tübüler atrofi, tübüler dilatasyon, vakuolizasyon, tübüllerde proteinöz madde birikimi ile birlikte tübül lümenine hücre debrisleri daha az oranda gözlemlendi (Resim 7A-7B).



Resim 7A-7B: İR+Deks grubuna ait kesitler. **G:** glomerül, **P:** proksimal tübül, **D:** distal tübül, (★) mononükleer hücre infiltrasyonunun ve (⇔) tübüllerde proteinöz madde birikiminin diğer gruplara göre azalmış olduğu görünüm.

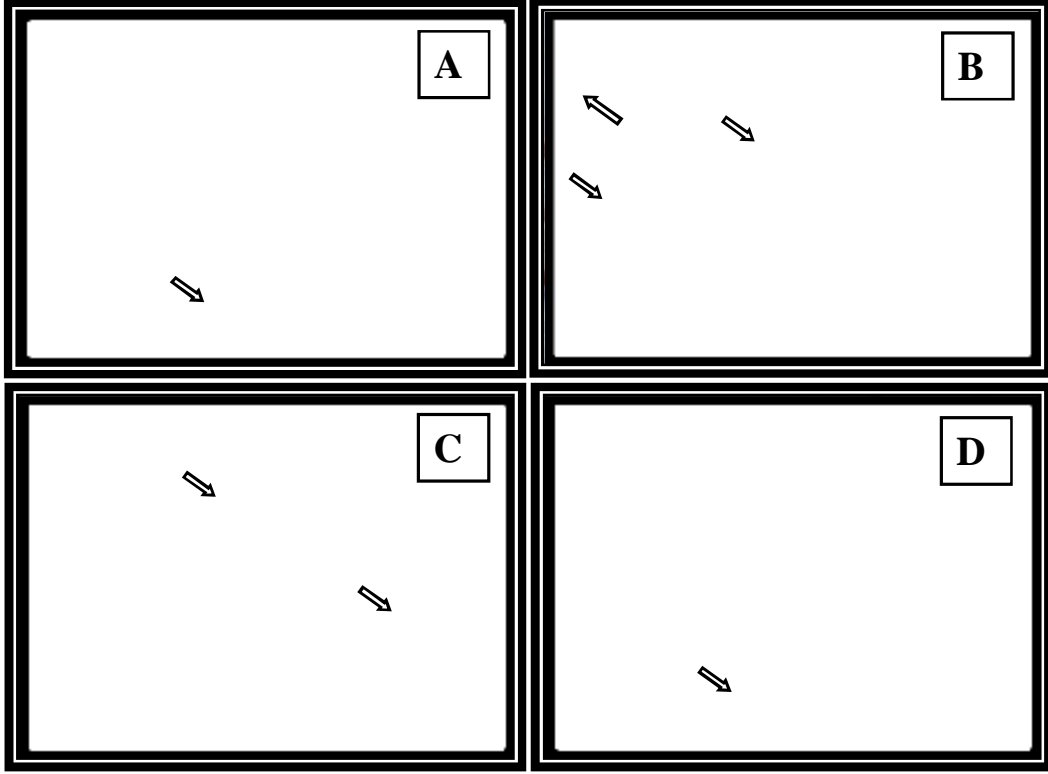
İskemi Reperfüzyon+UIÖK+Deks grubunda ise, İR grubuna göre peritübüler alanda mononükleer hücre infiltrasyonunda azalma gözlemlendi. İskemi reperfüzyon grubunda tübüslarda gözlenen tübüler atrofi, tübüler dilatasyon ve vakuolizasyon ile tübüllerde proteinöz madde birikimi ile birlikte tübül lümenine hücre debrisleri ve fırçamsı kenar kaybı İR+UIÖK+Deks grubunda daha az oranda gözlemlendi. İskemi Reperfüzyon+Deks grubuyla karşılaştırıldığında tübüler değişikliklerde bir miktar daha azalma gösterdiği dikkati çekti (Resim 8A-8B).

Grup IV



Resim 8A-8B: İR+UIÖK+Deks grubuna ait kesitler. G: glomerül, P: proksimal tübül, D: distal tübül, (★) mononükleer hücre infiltrasyonunun ve (⇒) tübüllerde proteinöz madde birikiminin diğer gruplara göre azalmış olduğu görünüm.

İmunohistokimyasal boyama incelendiğinde İR grubunda aktif kaspaz-3 pozitif hücrelerin boyanma yoğunluğunun *Sham* grubuna göre artmış; İR+Deks ve İR+UİÖK+Deks grupları incelendiğinde, İR grubuna göre boyanma yoğunluğunun azalmış olduğu görülmektedir. İR+UİÖK+Deks grubunda aktif kaspaz-3 pozitif hücrelerin boyanma yoğunluğu İR+Deks grubuna göre daha da azalmış olarak görülmektedir (Resim 9).



Resim 9: Deney gruplarına ait aktif kaspaz-3 immunohistokimya boyalı kesit görüntüleri. **A:** *Sham*, **B:** İR, **C:** İR+Deks, **D:** İR+UİÖK+Deks (⇒) aktif kaspaz-3 immun pozitif proksimal tübül epitel hücrelerini işaret etmektedir. C ve D kesitlerinde aktif kaspaz-3 immun pozitif proksimal tübül epitel hücrelerinin B grubuna göre azalmış olduğu gözlenmektedir.

5.TARTISMA

İskemi sonucu oluşan akut böbrek yetersizliği; hipotansiyon, hipovolemi ve dehidratasyona sekonder gelişen hipoperfüzyonun yanısıra; major kardiyotorasik, vasküler ve transplant cerrahilerinde İR hasarına bağlı olarak da görülebilir (1-4). Perioperatif gelişen akut böbrek yetersizliğinin en sık nedenlerinden biri İR hasarıdır (4). İskemi reperfüzyona bağlı renal hasar, tübül ve vasküler yataktaki kompleks birtakım değişiklikleri içeren dinamik bir süreçtir. Bu kompleks aktivasyon hemodinamik değişikliklere, lökosit akümülyasyonuna, hücrenin polaritesinin kaybına, ve hücresel yıkıma neden olur. Bu süreçte hücrelerde apoptozis ve nekroz gelişir, bu da nekrotik ve canlı hücrelerin deskuamasyonu ve tübüler obstrüksiyon ile sonuçlanır. (91).

Renal İR hasarını önlemek veya tedavi etmek amacıyla uygulanan yöntemlerden UİÖK ve deksmedetomidin ile farmakolojik koşullamanın tek başına uygulanmalarının İR hasarında olumlu olan etkileri daha önce yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir (6). Bununla birlikte İngilizce yayınlanan literatürde yaptığımız taramada bu iki yöntemin birarada kullanılmasının İR hasarına olan etkilerini değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu deneysel çalışmada sıçan renal İR modelinde, kaspaz 3 immunreaktivite ve histopatolojik hasar skorları kullanılarak UİÖK ile bir arada uygulanan deksmedetomidinin renal apoptozise olan etkisi tek başına uygulanan deksmedetomidin ile kıyaslanmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre deksmedetomidinin hem tek başına hem de UİÖK ile birlikte uygulanması İR hasarına kıyasla anlamlı olarak mononükleer hücre infiltrasyonunu, glomerülötübüler değişiklikleri ve total hasar skorlarını azaltmıştır. Her iki grupta da tübüler değişiklikler haricindeki ($p=0,05$) skorlar *Sham* grubundaki sonuçlar ile benzer bulunmuştur. Deksmedetomidin hem tek başına hem de UİÖK ile birlikte uygulandığında böbrekte tama yakın bir koruma sağlamıştır. Bunun dışında, UİÖK ile birlikte uygulanan deksmedetomidin grubundaki aktif kaspaz 3 immunreaktivitesindeki anlamlı azalma İR hasarında önemli bir yolak olan apoptozisin bu iki farklı uygulamanın birlikteliği ile önlenebileceğini göstermektedir.

Literatürde yapılan birçok çalışmada böbrek İR hasar modeli oluşturmak için farklı iskemi ve reperfüzyon süreleri kullanılmıştır (24,92,93,94). Kritik iskemi süresi organ bağımlı olup beyinde 5 dk.'den daha fazla bir iskemi dikkate değer ölçüde nöron ölümü ve infarktüse neden olurken, karaciğer ve böbrek için bu sürenin 15-20 dk. olduğu bildirilmiştir (95). Williams ve ark. (92) İR hasarının etkilerini böbrekte yarattıkları 45 dk.'lik iskemiye takiben

reperfüzyonun 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 9 ve 24. saatleri ile 1 hafta sonrasındaki kan ve doku örneklerinde araştırmışlardır. Bu çalışmacılara göre İR hasarı böbrekte en erken 4. saatte başlamakta ve 24. saatte de pik yapmaktadır.

Deksmedetomidinin İR hasarına karşı organ koruyucu etkileri beyin, kalp ve böbrek gibi birçok değişik dokuda gösterilmiştir (19-22). Deksmedetomidinin sıçan renal İR hasarına etkileri ilk kez Koçoğlu ve ark. (24) tarafından çalışılmıştır. Bu çalışmacılar, sağ nefrektomi yaptıkları sıçanlarda sol renal arteri 60 dk. klempledikten sonra 45 dk. reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında reperfüzyonun başında 100 mcg/kg ip deksmedetomidin uygulaması ile 45.dk'deki histopatolojik hasar skorlarının anlamlı olarak azaldığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde bu çalışmada da aynı dozda ve reperfüzyon başında uygulanan deksmedetomidin histolojik hasar skorlarında anlamlı bir azalma yaratarak renoprotektif bir etki sağlamıştır. Aynı zamanda, bu çalışmada elde edilen bu renoprotektif etkinin sadece reperfüzyon sonrası erken döneme ait olmadığı İR hasarının pik etki yaptığı kabul edilen (92) 24. saatte de devam ettiği saptanmıştır.

Gu ve ark. (4) deksmedetomidinin sıçan renal İR hasarındaki etkilerini invivo ve invitro olarak çalışmışlardır. Bu çalışmada sıçanların bilateral renal pedikülleri klempenerek 25 ya da 40 dk.'lik sürelerle ılımlı ve hayatı tehdit edici düzeyde ağır iskemi modelleri oluşturulmuş ve ip deksmedetomidin reperfüzyondan 30 dk. önce ve sonra olmak üzere 25 mcg/kg dozunda uygulanmıştır. Farklı olarak, biz 60 dk.'den oluşan daha uzun süreli ve hayatı tehdit edici düzeydeki iskemi modelini kullanarak deksmedetomidinin antiiskemik etkisinin olduğu gösterilmiş olan (96,97) 100 mcg/kg gibi yüksek dozunu sadece reperfüzyon döneminin başında uyguladık. Gu ve ark (4) hem preiskemik hem de postiskemik deksmedetomidin tedavisi ile İR sonrası 24. saatte tübüler yapılarıdaki değişikliklerin renal fonksiyonları da içerecek şekilde belirgin düzeyde azaldığını bildirmiştir. Bu çalışmacıların sonuçlarından farklı olarak bizim çalışmamızda elde edilen totale yakın korunma doz ve ilacın uygulanma zamanı ile ilişkili olabilir.

Deksmedetomidinin renal İR hasarındaki koruyucu etkisinin mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte, noradrenalin salınımını azaltarak renal kan akımı ve glomerüler filtrasyonu artırdığı kabul edilmektedir (98). Villela ve ark. (23) yaptıkları deneysel çalışmada anestezi altındaki köpeklere düşük doz (1 ve 2 mcg/kg bolus doz uygulamasını takiben 1 ve 2 mcg/kg 1 saatlik intravenöz infüzyon) deksmedetomidin uygulamasının idrar osmolalitesini ve plazma vazopressin düzeyini azaltarak serbest su diürezine neden olduğunu bildirmişlerdir.

Frumento ve ark. (25) ise renal bir hastalığı olmayan torasik cerrahi uygulanmış olgularda deksmedetomidin infüzyonu ile idrar akımı ve glomerüler filtrasyon göstergelerini içeren renal fonksiyonların postoperatif dönemde iyileştiğini göstermişlerdir. Deksmetomidinin olası etki mekanizmalarından biri de cerrahi stres yanıtı inhibe edip adrenerejik sistem aracılı vazokonstriksiyonu engelleyerek böbreği korumasıdır (80,99-101). Ayrıca, böbrekteki direkt vasküler etkiler ile de renal arteriyel vazodilatasyonu artırabilmektedir (24). İskemik önkoşullamada PKC'nin önemli bir rol oynadığı ve onun intrasellüler iletim yollarını uyararak sarkolemmal ve mitokondriyal ATP-bağımlı K⁺ kanallarını açıp organ koruma yaptığı ve genetik transkripsiyon aracılığı ile koruyucu hücrel protein sentezini artırdığı bildirilmiştir. Alternatif sinyal iletim yolları ile ilgili yapılan bir çalışmada da alfa 2B reseptör agonistlerinin böbrek distal toplayıcı tübül hücrelerinde PKC aktivitesi ve inozitol trifosfat üretimini stimüle ettiği gösterilmiştir. Bu da alfa 2 agonistlerinin İÖK ile oluşan hücre korunmasını taklit ettiğinin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (102,103). Gu ve ark. (4) çalışmalarının bir parçası olarak deksmedetomidinin etki mekanizmasına yönelik oksijen ve glukozdan yoksun bırakılmış stabilize insan böbrek proksimal tübül hücre kültüründe invitro olarak çalışmışlardır. Bu çalışmacılara göre deksmedetomidinle tedavi sonrası doza ve alfa-2 adrenoreseptör etkiye bağımlı olarak kültüre edilmiş tübüler hücrelerde fosfo Akt ekspresyonunda anlamlı bir artış olmuştur. Fosfo Akt yolağı hücre ölümünü başlatıcı proapoptotik Bcl-2'nin fosforilasyonu ve antiapoptotik Bcl-2 ve Bcl-xl'in ekspresyonunun *upregülasyonu* aracılığı ile kaspaz kontrollü intrensek apoptotik yolun inhibe olmasını sağlayarak hücrelerin canlı kalmasına neden olmaktadır. Deksmetomidinin nöron koruyucu etkisinin antiapoptotik Bcl-2 ve Mdm-2 ekspresyonundaki artışa bağlı olduğu, bu artışın da proapoptotik kaspaz 3 ve Bax düzeylerindeki azalma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (104). Akt yolağı renal İR'den derlenme için de kritik bir yoldur. Bu çalışmada apoptozisin göstergesi olarak aktif kaspaz-3 immunreaktivitesini değerlendirilmiştir. Aktif kaspaz-3 apoptozisin her iki yolağının ortak ve hücre ölümünün kesin göstergesi olan son basamağıdır. Deksmetomidin uygulaması ile istatistiksel olarak anlamlı olmasa da (p=0,06) İR hasarına kıyasla aktif kaspaz-3 immunreaktivitesinde belirgin oranda azalma olduğu gösterilmiştir. Bu farklılığın anlamlı olmaması denek sayısının az olması ile ilişkili olabilir. Yapılacak yeni çalışmalarda deksmedetomidinin farklı zaman dilimlerinde ve dozlarda daha geniş hayvan serilerinde uygulanması ile bu koruyucu etki mekanizmasının daha iyi gösterilebileceği kanısındayız.

İskemik önkoşullama İR hasar düzeyini azaltmak amacıyla hedef organ iskemisi öncesinde, mekanik ya da farmakolojik olarak uygulanan bir yöntemdir. Mekanik önkoşullama da direkt veya uzak (indirekt) olmak üzere ikiye ayrılır. İskemik önkoşullamada amaç hedef organa kısa aralıklarla iskemi ve reperfüzyon uygulayarak hedef organın iskemiyi tolere etmesini sağlamaktır. Direkt iskemik önkoşullamanın büyük damarlara travma ve organa stres oluşturulması gibi dezavantajları vardır. Farklı bir dokunun kısa aralarla İR periyotlarına maruz bırakılarak hedef dokunun hasardan korunmasını amaçlayan UIÖK, dokuya zarar vermeyecek şekilde ve noninvaziv olarak uygulanan daha yeni bir modeldir (6). Uzak İÖK ilk kez 1993'te miyokardiyal infarktüsün bir hayvan modelinde uygulanmış, bir vasküler yatağın önkoşullamasının kalbe ait bir başka vasküler yatağı koruduğu gösterilmiştir (8). Bu çalışmayı takiben birçok çalışmada, sıçan, köpek, tavşan modellerinde değişik uzak organların (renal ve hepatik vasküler yapılar, ekstremiteler, bağırsak) kısa süreli iskemisinin farklı hedef organları (akciğer, böbrek, iskelet kası, bağırsak) İR hasarına karşı koruduğu bildirilmiştir (64,65,72,105). Yüksek enerji talebi ve yoğun mikrovasküler ağa sahip olması böbrekleri renal arter stenozu ve renal cerrahideki böbrek hasarının major bir nedeni olan İR hasarına duyarlı hale getirir. Renal İR hasarı kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin major nedeni olup transplantasyon sonrası greft fonksiyonlarında gecikme, kardiyak ve aortik cerrahi ile şok sonrası görülen renal hasarla ilişkilidir (45-48,107,108). Literatürde yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda uzak organ İÖK'sinin böbrek için koruyucu olduğu gösterilmiştir (106,109). Venugopal ve ark. (109) koroner arter *bypass* greftleme operasyonu geçirecek diyabetik olmayan hastalarda yaptıkları çalışmada böbrek hasarını önlemek için, önkola 200 mmHg basınçlı, 3 döngü halinde (5 dk. iskemi, 5 dk. reperfüzyon) olacak şekilde turnike uygulayarak önkoşullama yapmışlar ve sonuç olarak böbrek hasarının kontrol grubuna göre daha az olduğunu belirtmişlerdir. Song ve ark. (11) karşı taraf böbreği çıkarılmış sıçanlarda ince bağırsağa 3 döngü halinde 8 dk. iskemi, 5 dk. reperfüzyon uyguladıktan sonra renal arteri 45 dk. klempleyerek böbrekte iskemi oluşturmuşlar ve reperfüzyonun 2. ve 24. saatinde kan örnekleri alarak kreatinin, kan üre nitrojeni yanısıra renal korteks malonildialdehit (MDA) düzeyleri ile CAT ve SOD aktivitelerini ve renal histopatolojiyi değerlendirmişlerdir. Bu çalışmacılar intestinal iskemik önkoşullama ile yapılan öntedavinin renal İR hasarını anlamlı olarak azalttığını, böbrek fonksiyonları ve MDA ile renal morfolojik değişikliklerdeki azalma yanı sıra SOD ve CAT aktivitelerindeki iyileşme ile göstermişlerdir. Çalışmacıların sonuçlarına göre renal İR hasarına karşı UIÖK'nin koruyucu etkisi lipid peroksidasyonunun inhibisyonu ve antioksidan enzim aktivitelerinin korunmasıyla sağlanmaktadır. Wever ve ark. (106) ise bizim çalışmamızla uyumlu olarak arka bacak

UİÖK'sinin renal İR hasarına etkisini çalışmışlardır. Bu çalışmacılar bizden farklı olarak çalışmalarında UİÖK'nin sürekli veya periyodik olarak uygulanması ile tek veya çift taraf ekstremiteye uygulanan ön koşullamanın etkilerini karşılaştırmışlardır. Çalışmacılar İR önkoşullamalarını bizim çalışmamızdaki gibi 3 siklus olarak uygulamış olsalar da İR sürelerini farklı olarak 4/4 dk. olmak üzere daha kısa tutmuşlar ve bunun 25 dk.'lik iskemiye etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmacılar renal tübül ve böbrek hasarını gösteren molekül-1 ekspresyonunun 3 döngü İR yapılan grupta belirgin olarak azaldığını ve bu korunmanın İR hasarında rol oynayan adenozin ile ilişkili olmadığını bildirmişlerdir. Uzak İÖK'nin altta yatan mekanizması ve onun iletim yolları büyük oranda açıklığa kavuşmamıştır. Hem nörojenik yol hem de biyokimyasal iletiler UİÖK'nin mekanizmasında rol oynayabilir (16). Bu mekanizmalar hedef organ ve uygulanan önkoşullama protokolüne bağımlı olarak farklılık gösterebilir. Böbrek UİÖK'sinin kullanıldığı miyokardiyal iskemi modellerinde nükleer faktör-kappa B proteinlerinin ekspresyonunu takiben K_{ATP} kanallarının açılmasının mekanizmada önemli olduğu bildirilmiştir (110).

Her ne kadar renal İR hasarı önemli ve yaygın klinik problem olsa da İR hasarını azaltmak için var olan stratejiler yetersiz olup yeni tedavi ve yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Literatürde sıçan renal İR hasarında farmakolojik ve mekanik korunmanın bir arada uygulandığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmada sıçan renal İR hasarında kullanılan iki ayrı yöntem olan deksmedetomidin ile daha az sayıdaki çalışmada (6) etkinliği bildirilmiş UİÖK'nin birarada uygulanmasının, yararlı etkilerinin daha çok gösterildiği kabul edilen deksmedetomidinle kıyaslanması amaçlanmıştır. Bu iki yöntemin bir arada uygulanması deksmedetomidinle benzer şekilde histopatolojik hasarı önlemiş ve tübüler değişiklikler hariç diğer skorlarda *Sham* grubuna yakın İR hasarında bir iyileşme sağlamıştır. Aynı zamanda aktif kaspaz 3 immunreaktivitesindeki İR grubuna kıyasla saptanan anlamlı düzeydeki azalma bu iki yöntemin bir arada uygulanmasının apoptozisi önleyerek hücre ölümünü engellediğini göstermektedir. Deksmetomidinin tek başına kullanımını anlamlı olmasa da aktif kaspaz 3 immunreaktivitesini azaltmış olması bu iki yöntemin de benzer yolağı kullandığını düşündürmektedir. Belki de bu iki farklı koruyucu tedavi bir arada iken birbirlerinin etkisini artırmaktadır.

Bizim çalışmamızda anestezi ajanı olarak alfa 2 agonist etkinliği olan ksilazin yanısıra İR hasarını olumsuz etkilediği ileri sürülen ketamin (16) kullanılmıştır. İskemi reperfüzyon grubunda hasarın *Sham* grubuna kıyasla anlamlı düzeyde artmış bulunması ksilazinin hasara olumlu etkisinin olmadığını göstermektedir. Bu çalışmada *Sham* grubunda histopatolojik

skorlar ve aktif kaspaz 3 immunreaktivitesinin normal olması ketaminin sonuçlarımıza olumsuz bir etki yapmadığını düşündürmektedir.

Bu çalışmada İR hasar mekanizmasında önemli rol oynayan apoptozise tek başına UİÖK'nin etkisinin gösterilmemiş olması çalışmanın sınırlayıcı bir yanı olarak kabul edilmiştir. Aynı zamanda İR hasarından sorumlu olan oksidatif stres ve enflamatuvar mediyatörlerin veya nörojenik yolağın gösterilememesi bu çalışmanın sınırlı bir başka yönüdür.

6.SONUC VE ÖNERİLER

Sonuç olarak; bu deneysel çalışmada sıçan renal İR modelinde deksmedetomidin ile farmakolojik koşullamanın ve UİÖK'ye deksmedetomidin eklenmesinin böbrek İR hasarını histopatolojik anlamlı düzeyde azalttığı, iki yöntemin birlikte uygulanmasının aktif kaspaz 3 üzerinden etki ederek apoptozisi önlediği saptanmıştır.

Renal İR modelinde UİÖK'nin apoptozise olan direkt etkisinin gösterildiği, farklı yollara özgü spesifik göstergelerin de kullanıldığı ileri çalışmaların yapılması gerektiği kanısındayız.

7.KAYNAKLAR

- 1-** Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med* 1996; 334:1448-60.
- 2-** Brezis M, Rosen S, Silva P, Epstein FH. Renal ischemia: A new perspective. *Kidney Int* 1984; 26: 375-83.
- 3-** Caron A, Desrosiers RR, Beliveau R. Kidney ischemia reperfusion regulates expression and distribution of tubulin subunits, beta-actin and rho GTPases in proximal tubules. *Arch Biochem Biophys* 2004; 431: 31-46.
- 4-** Gu J, Pamela S, Hailin Z, Helena R ve ark. Dexmedetomidine provides renoprotection against ischemia-reperfusion injury in mice. *Critical Care* 2011; 15: R153.
- 5-** Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001; 94: 1133-8.
- 6-** Tapuria N, Kumar Y, Habib MM, Amara MA ve ark. Remote ischemic preconditioning: A novel protective method from ischemia reperfusion injury-a review. *J Surg Res* 2008; 150: 304-30.
- 7-** Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-36.
- 8-** Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA ve ark. Regional ischemic preconditioning protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation* 1993; 87: 893-9.
- 9-** Jerome SN, Akimitsu T, Gute DC, Korthuis RJ ve ark. Ischemic preconditioning attenuates capillary no-reflow induced by prolonged ischemia and reperfusion. *Am J Physiol* 1995; 268: 2063-7.
- 10-** Wang NP, Bufkin BL, Nakamura M, Zhao ZQ ve ark. Ischemic preconditioning reduces neutrophil accumulation and myocardial apoptosis. *Ann Thorac Surg* 1999; 67: 1689-95.
- 11-** Song T, Peng YF, Guo SY, Liu YH ve ark. Brief small intestinal ischemia lessens renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Comp Med* 2007; 57: 200-5.

- 12-** Mizutani A, Okajima K, Uchiba M, Noguchi T ve ark. Activated protein C reduces ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats by inhibiting leukocyte activation. *Blood* 2000; 95: 3781-7.
- 13-** Chiao H, Kohda Y, McLeroy P, Craig L ve ark. Alpha-melanocyte-stimulating hormone protects against renal injury after ischemia in mice and rats. *J Clin Invest* 1997; 99: 1165-72.
- 14-** Smyrniotis V, Arkadopoulos N, Kostopanagiotou G, Theodoropoulos T ve ark. Attenuation of ischemic injury by N-acetylcysteine preconditioning of the liver. *J Surg Res* 2005; 129: 31-7.
- 15-** Jin X, Wang L, Wu HS, Zhang L ve ark. N-acetylcysteine inhibits activation of toll-like receptor 2 and 4 gene expression in the liver and lung after partial hepatic ischemia-reperfusion injury in mice. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007; 6: 284-9.
- 16-** Curtis FG, Vianna PT, Viero RM. Dexmedetomidine and S(+)-ketamine in ischemia and reperfusion injury in the rat kidney. *Acta Cir Bras* 2011; 26: 202-6.
- 17-** Erkut B, Ozyazıcıoğlu A, Karapolat BS, Kocogulları CU ve ark. Effects of ascorbic acid, alpha-tocopherol and allopurinol on ischemia-reperfusion injury in rabbit skeletal muscle: an experimental study. *Drug Target Insights* 2007; 2: 249-58.
- 18-** Gueler F, Park JK, Rong S, Kirsch T ve ark. Statins attenuate ischemia-reperfusion injury by inducing heme oxygenase-1 in infiltrating macrophages. *Am J Pathol* 2007; 170: 1192-9.
- 19-** Sanders RD, Maze M. Alpha 2-adrenoceptor agonists. *Curr Opin Investig Drugs* 2007; 8: 25-33.
- 20-** Billings FT, Chen SW, Kim M, Park SW ve ark. Alpha 2-Adrenergic agonists protect against radioccontrast-induced nephropathy in mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 295: 741-8.
- 21-** Ma D, Hossain M, Rajakumaraswamy N, Arshad M ve ark. Dexmedetomidine produces its neuroprotective effect via the alpha 2A-adrenoceptor subtype. *Eur J Pharmacol* 2004; 502: 87-97.
- 22-** Kuhmonen J, Pokorny J, Miettinen R, Haapalinna A ve ark. Neuroprotective effects of dexmedetomidine in the gerbil hippocampus after transient global ischemia. *Anesthesiology* 1997; 87: 371-7.

- 23-** Villela NR, Nascimento PVN, Carvalho LR. Effects of dexmedetomidine on renal system and on vasopressin plasma levels. Experimental study in dogs. *Rev Bras Anesthesiol* 2005; 55: 429-40.
- 24-** Kocoğlu H, Ozturk H, Ozturk H, Yılmaz F ve ark. Effect of dexmedetomidine on ischemia-reperfusion injury in rat kidney: a histopathologic study. *Ren Fail* 2009; 31: 70-4.
- 25-** Frumento RJ, Logginidou HG, Wahlander S, Wagener G ve ark. Dexmedetomidine infusion is associated with enhanced renal function after thoracic surgery. *J Clin Anesth* 2006; 18: 422-6.
- 26-** Atilla K, Coker A, Sagol O, Coker I ve ark. Protective effects of carnitine in an experimental ischemia-reperfusion injury. *Clinical Nutrition* 2002; 4: 309-13.
- 27-** Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994; 81: 637-64
- 28-** Rhodes RS, DePalma RG. Mitochondrial dysfunction of the liver and hypoglycemia in hemorrhagic shock. *Surg Gynecol Obstet* 1980; 150: 347-52.
- 29-** Best B. Ischemia and reperfusion injury in cryonics.
<http://www.benbest.com/cryonicsischemia.html>
- 30-** McMichael M, Moore MRM. Ischemia–reperfusion injury pathophysiology, part I. *J Vet Emerg Crit Care* 2004; 14: 231-41.
- 31-** Kumar V, Cotran R, Robbins SL. Basic Pathology. 6th edition 2000: P:6-10,30-36.
- 32-** Göksel Ş, Yeğen BÇ. İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Fizyopatoloji* 2009; 22: 5-13.
- 33-** Zelenock G. Clinical ischemic syndromes: mechanism and consequence of tissue injury. *Mosby Co, St. Louis* 1990; 47-62.
- 34-** Heurteaux C, Lauritzen I, Widmann C, Lazdunski M. Essential role of adenosine, adenosine A1 receptors, and ATP-sensitive K⁺ channels in cerebral ischemic preconditioning (forebrain ischemia/gene expression). *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4666–70.
- 35-** Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993; 21: 1376-86.

- 36-** Kılınç K. Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biyokimya Dergisi* 1985; 2: 60-89.
- 37-** Gunel E, Caglayan F, Caglayan O, Dilsiz A ve ark. Treatment of intestinal reperfusion injury using antioxidative agents. *J Pediatr Surg* 1998; 33: 1536-39.
- 38-** Oostenbrug GS, Mensink RP, Hardeman MR ve ark. Exercise performance, red blood cell deformability, and lipid peroxidation: effects of fish oil and vitamin E. *J Appl Physiol* 1997; 83: 746-52.
- 39-** Huang SS, Wei FC, Hung LM. Ischemic preconditioning attenuates postischemic leukocyte - endothelial cell interactions role of nitric oxide and protein kinase C. *Circ J* 2006; 70: 1070-75.
- 40-** Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol* 1986; 250: 749-53.
- 41-** Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol Int* 1999; 49: 91-102.
- 42-** Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000; 190: 255-66.
- 43-** Panés J, Perry M, Granger DN. Leukocyte endothelial cell adhesion: Avenues for therapeutic intervention. *Br J Pharmacol* 1999; 126: 537-50.
- 44-** Collard CD, Lekowski R, Jordan JE, Agah A ve ark. Complement activation following oxidative stress. *Mol Immunol* 1999; 36: 941-48.
- 45-** Ojo AO, Wolfe RA, Held PJ, Port FK ve ark. Delayed graft function: risk factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation* 1997; 63: 968-74.
- 46-** Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation. *Lancet* 2004; 364: 1814-27.
- 47-** Ojo AO, Held PJ, Port FK, Wolfe RA ve ark. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med* 2003; 349: 931-40.

- 48-** Nigwekar SU, Kandula P, Hix JK, Thakar CV. Off-pump coronary artery bypass surgery and acute kidney injury: a meta-analysis of randomized and observational studies. *Am J Kidney Dis* 2009; 54: 413–23.
- 49-** Bonventre JV. Mechanisms of acute renal failure. *Kidney Int.* 1993; 43: 1160-70
- 50-** Noiri E, Gailit J, Sheth D, Magazine H ve ark. Cyclic RGD peptides ameliorate ischemic acute renal failure in rats. *Kidney Int* 1994; 46: 1050-58.
- 51-** Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *J Biochem* 1984; 222(1): 1-15.
- 52-** Friedewald JJ, Rabb H: Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 2004; 66: 486-91.
- 53-** Yazıcı P, Alizadehshargh S, Akdogan G. Apoptoz: düzenleyici moleküller, hastalıklarla ilişkisi ve apoptozu saptama yöntemleri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2009; 29(6): 1677-86.
- 54-** Faubel S, Edelstein CL. Caspases as drug targets in ischemic organ injury. *Immune Endocr Metabol Disord* 2005; 5(3): 269-87.
- 55-** Chien CT, Hsu SM, Chen CF, Lee PH ve ark. Prolonged ischemia potentiates apoptosis formation during reperfusion by increase of caspase 3 activity and free radical generation. *Transplantation Proceedings* 2000; 32: 2065–66.
- 56-** Chamoun F, Burne M, O’ Donnell M, Rabb H. Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. *Front. Biosci* 2000; 5: 103-9.
- 57-** Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Hastalıkların patogenezi ve tedavisinde reaktif oksijen partikülleri ve antioksidanlar. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 1997; 3-4: 96-101.
- 58-** Losonczy G Jr. Early postischemic renal fibrin deposition and reduction of glomerular filtration rate in the rat: effect of the defibrinating agent Arwin. *Acta Physiol Hung* 1985; 66: 183-87.
- 59-** Druid H, Eneström S, Rammer L. Effect of anticoagulation upon nephron obstruction in experimental acute ischaemic renal failure: a morphological study. *Int J Exp Pathol* 1998; 79: 55-60.

- 60-** Maxwell SR, Lip GY. Reperfusion injury: A review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int J Cardiol* 1997; 58: 95–117.
- 61-** Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD ve ark. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation* 1983; 67: 1016–23.
- 62-** Laurikka J, Wu Z, Lisalo P, Kaukinen L ve ark. Regional ischemic preconditioning enhances myocardial performance in off-pump coronary artery bypass grafting. *Chest* 2002; 121: 1183-89.
- 63-** Bouchard JF, Lamontagne D. Mechanisms of protection afforded by preconditioning to endothelial function against ischemic injury. *Am J Physiol* 1996; 271: H1801–6.
- 64-** Peralta C, Prats N, Xaus C, Gelpi E ve ark. Protective effect of liver ischemic preconditioning on liver and lung injury induced by hepatic ischemia-reperfusion in the rat. *Hepatology* 1999; 30: 1481-89.
- 65-** Saita Y, Yokoyama K, Nakamura K, Itoman M. Effect of ischaemic preconditioning against ischaemia-induced reperfusion injury of skeletal muscle: how many preconditioning cycles are appropriate. *J Plast Surg* 2002; 55: 241-5.
- 66-** Li FZ, Kimura S, Nishiyama A, Rahman M ve ark. Ischemic preconditioning protects post-ischemic renal function in anesthetized dogs: role of adenosine and adenine nucleotides1. *Acta Pharmacologica Sinica* 2005; 26: 851–9.
- 67-** Lochner A, Marais E, Genade S, Moolman JA. Nitric oxide: a trigger for classic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279: 252–65.
- 68-** Peralta C, Closa D, Xaus C, Gelpí E ve ark. Hepatic preconditioning in rats is defined by a balance of adenosine and xanthine. *Hepatology* 1998; 28: 768–73.
- 69-** Takaoka A, Nakae I, Mitsunami K, Yabe T ve ark. Renal ischemia/reperfusion remotely improves myocardial energy metabolism during myocardial ischemia via adenosine receptors in rabbits: effects of “remote preconditioning”. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 556–64.
- 70-** Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, Kristiansen SB ve ark. Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation* 2002; 106: 2881–83.

- 71-** Küntscher MV, Kastell T, Sauerbier M, Nobiling R ve ark. Acute remote ischemic preconditioning on a rat cremasteric muscle flap model. *Microsurgery* 2002; 22: 221–26.
- 72-** Ates E, Genc E, Erkasap N, Erkasap S ve ark. Renal protection by brief liver ischemia in rats. *Transplantation* 2002; 74: 1247–51.
- 73-** Lazaris AM, Maheras AN, Vasdekis SN, Karkaletsis KG ve ark. Protective effect of remote ischemic preconditioning in renal ischemia/reperfusion injury in a model of thoracoabdominal aorta approach. *J Surg Res* 2009; 154: 267–73.
- 74-** Kloner RA, Bolli R, Marban E, Reinlib L ve ark. Medical and cellular implications of stunning, hibernation, and preconditioning: an NHLBI workshop. *Circulation* 1998; 97: 1848-67.
- 75-** Kloner RA, Rezkalla SH. Preconditioning, postconditioning and their application to clinical cardiology. *Cardiovasc Res* 2006; 70: 297-307.
- 76-** Yellon DM, Downey JM. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev* 2003; 83: 1113-51.
- 77-** Wikberg JE, Uhlén S, Chhajlani V. Medetomidine stereoisomers delineate two closely related subtypes of idazoxan (imidazoline) I₁-receptors in the guinea pig. *Eur J Pharmacol* 1991; 193: 335-400.
- 78-** Getrler R, Brown HC, Mitchell DH, Silvius EN. Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2001; 14: 13-21.
- 79-** Taniguchi T, Kidani Y, Kanakura H, Takemoto Y ve ark. Effects of dexmedetomidine on mortality rate and inflammatory responses to endotoxin induced shock in rats. *Crit Care Med* 2004; 32: 1322-6.
- 80-** Kulka PJ, Tryba M, Zenz M: Preoperative alpha 2-adrenergic receptor agonists prevent the deterioration of renal function after cardiac surgery: results of a randomized, controlled trial. *Crit Care Med* 1996; 24: 947-52.
- 81-** Solez K, Ideura T, Silvia CB, Hamilton B ve ark. Clonidine after renal ischemia to lessen acute renal failure and microvascular damage. *Kidney Int* 1980; 18: 309-22.

- 82-** Tsutsui H, Sugiura T, Hayashi K, Ohkita M ve ark. Moxonidine prevents ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats. *Eur J Pharmacol* 2009; 603: 73-8.
- 83-** Scheinin M, Kallio A, Koulu M, Viikari J ve ark. Sedative and cardiovascular effects of medetomidine, a novel selective alpha2-adrenoceptor agonist, in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 1987; 24: 443-51.
- 84-** Kallio A, Scheinin M, Koulu M, Ponkilainen R ve ark. Effects of dexmedetomidine, a selective alpha2-adrenoceptor agonist, on hemodynamic control mechanisms. *Clin Pharmacol Ther* 1989; 46: 33-42.
- 85-** Aho M, Scheinin M, Lehtinen AM, Erkola O ve ark. Intramuscularly administered dexmedetomidine attenuates hemodynamic and stress hormone responses to gynecologic laparoscopy. *Anesth Analg* 1992; 75: 932-39.
- 86-** Talke P, Chen R, Thomas B, Aggarwall A ve ark. The hemodynamic and adrenergic effects of perioperative dexmedetomidine infusion after vascular surgery. *Anesth Analg* 2000; 90: 834-39.
- 87-** Jalonen J, Hynynen M, Kuitunen A, Heikkila H ve ark. Dexmedetomidine as an anesthetic adjunct in coronary artery bypass grafting. *Anesthesiology* 1997; 86: 331-45.
- 88-** Kanoria S, Jalan R, Davies NA, Sifalian AM ve ark. Remote ischaemic preconditioning of the hind limb reduces experimental liver warm ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 2006; 93: 762-8.
- 89-** Duru S, Koca U, Oztekin S, Olguner C ve ark. Antithrombin III pretreatment reduces neutrophil recruitment into lung and skeletal muscle tissues in the rat model of bilateral lower limb ischaemia and reperfusion: a pilot study. *Acta Anaesthesiol Scand* 2005; 49: 1142-8.
- 90-** Feng L, Xiong Y, Cheng F, Zhang L ve ark. Effect of ligustrazine on ischemia-reperfusion injury in murine kidney. *Transplant Proc* 2004; 36: 1949-51.
- 91-** Bonventre JV, Weinberg JM. Recent advances in the pathophysiology of ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2003; 14: 2199-210.
- 92-** Williams P, Lopez H, Britt D, Chan C ve ark. Characterization of renal ischemia-reperfusion injury in rats. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1997; 37: 1-7.

- 93-** Fujii T, Takaoka M, Muraoka T, Kurata H ve ark. Preventive effect of L-carnosine on ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in rats. *Eur J Pharmacol* 2003; 474: 261-67.
- 94-** Hussein Ael-A, Shokeir AA, Sarhan ME, El-Menabawy FR ve ark. Effects of combined erythropoietin and epidermal growth factor on renal ischaemia/reperfusion injury: a randomized experimental controlled study. *BJU Int.* 2011; 107: 323-28.
- 95-** Jaeschke H, Farhood A. Kupffer cell activation after no-flow ischemia versus hemorrhagic shock. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 210-19.
- 96-** Hoffman WE, Kochs E, Werner C, Thomas C ve ark. Dexmedetomidine improves neurologic outcome from incomplete ischemia in the rat. Reversal by the alpha 2-adrenergic antagonist atipamezole. *Anesthesiology* 1991; 75: 328-32.
- 97-** Hoffman WE, Baughman VL, Albrecht RF. Interaction of catecholamines and nitrous oxide ventilation during incomplete brain ischemia in rats. *Anesth Analg.* 1993; 77: 908-12.
- 98-** Taoda M, Adachi YU, Uchihashi Y, Watanabe K ve ark. Effect of dexmedetomidine on the release of [3H]-noradrenaline from rat kidney cortex slices: Characterization of alpha2-adrenoceptor. *Neurochem Int.* 2001; 38: 317-22.
- 99-** Helbo-Hansen S, Fletcher R, Lundberg D, Nordström L ve ark. Clonidine and the sympatico-adrenal response to coronary artery by-pass surgery. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1986; 30: 235-42.
- 100-** Kulka PJ, Tryba M, Zenz M. Dose-response effects of intravenous clonidine on stress response during induction of anesthesia in coronary artery bypass graft patients. *Anesth Analg.* 1995; 80: 263-68.
- 101-** Flacke JW, Bloor BC, Flacke WE, Wong D ve ark. Reduced narcotic requirement by clonidine with improved hemodynamic and adrenergic stability in patients undergoing coronary bypass surgery. *Anesthesiology* 1987; 67: 11-19.
- 102-** Gesek FA. Alpha2-adrenergic receptors activate phospholipase C in renal epithelial cells. *Mol Pharmacol.* 1996; 50: 407-14.
- 103-** O'Rourke B. Evidence for mitochondrial K⁺ channels and their role in cardioprotection. *Circ Res.* 2004; 94: 420-32.

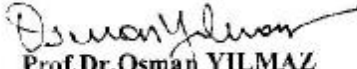
- 104-** Engelhard K, Werner C, Eberspacher E, Bachl M ve ark. The effect of the alpha 2-agonist dexmedetomidine and the N-methyl-D-aspartate antagonist S(+)-ketamine on the expression of apoptosis-regulating proteins after incomplete cerebral ischemia and reperfusion in rats. *Anesth Analg* 2003, 96: 524-31.
- 105-** Davis JM, Gute DC, Jones S, Krsmanovic A ve ark. Ischemic preconditioning prevents postischemic P-selectin expression in the rat small intestine. *Am J Physiol* 1999; 277: 2476-81.
- 106-** Wever KE, Warle MC, Wagener F, Hoorn JW ve ark. Remote ischaemic preconditioning by brief hind limb ischaemia protects against renal ischaemia-reperfusion injury: the role of adenosine. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 3108–17.
- 107-** Safian RD, Textor SC. Renal-artery stenosis. *N Engl J Med* 2001; 344: 431–42.
- 108-** Schrier RW, Wang W. Acute renal failure and sepsis. *N Engl J Med* 2004; 351: 159–69.
- 109-** Venugopal V, Laing CM, Ludman A, Yellon DM ve ark. Effect of remote ischemic preconditioning on acute kidney injury in nondiabetic patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a secondary analysis of 2 small randomized trials. *Am J Kidney Dis* 2010; 56: 1043-9.
- 110-** Diwan V, Kant R, Jaggi AS, Singh N ve ark. Signal mechanism activated by erythropoietin preconditioning and remote renal preconditioning-induced cardioprotection. *Mol Cell Biochem* 2008; 315: 195–201.

Toplantı No : 08/03/2012
Toplantı Tarihi : 17 Şubat 2012

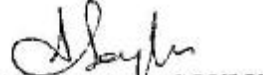
Sayın, Dr.Emine AYDIN
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı

08/2012 Protokol No'lu; Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanlığı araştırma görevlilerinden Dr.Emine AYDIN'ın yürütücüsü olduğu "Uzak iskemik önkoşullama ile birlikte kullanılan deksmedetomidinin sıçan renal iskemi reperfüzyon hasarına etkileri" isimli projede;
- Sakrifikasyon yöntemi materyal-metod'ta sakınca yaratmıyorsa, yüksek doz anestesik ajan kullanılması önerilir.
Projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

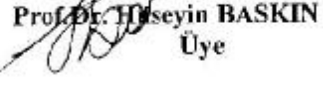

Prof. Dr. Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik
Kurul Başkanı

Prof. Dr. A. Necati GÖKMEN
Başkan Yardımcısı
(Topl. katılmadı)


Prof. Dr. Alper SOYLU
Üye


Prof. Dr. Ayşe GELAL
Üye


Prof. Dr. Mehmet SARIOSMANOĞLU
Üye


Prof. Dr. Huseyin BASKIN
Üye

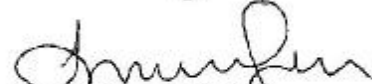
Prof. Dr. Abdullah KUMRAL
Üye (Topl. Katılmadı)


Prof. Dr. Gülgün OKTAY
Üye

Doç. Dr. Turna İLKNUR
Üye

Doç. Dr. H. Alper BAĞRIYANIK
Üye

Doç. Dr. Tonay İNCEBOZ
Üye


Doç. Dr. Şermin GENÇ
Üye

Ayşe Nur BALIN
Üye

Vtr. Hekim Adnan SERPEN
Üye