

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

**DENEYSEL ALT EKSTREMİTE İSKEMİ
REPERFÜZYON MODELİNDE
DEKSMEDETOMİDİNİN AKUT AKCİĞER
HASARI ÜZERİNDEKİ ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

DR. ÖMER BURAK KÜÇÜKEBE

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2009

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

**DENEYSEL ALT EKSTREMİTE İSKEMİ
REPERFÜZYON MODELİNDE
DEKSMEDETOMİDİNİN AKUT AKCİĞER
HASARI ÜZERİNDEKİ ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. ÖMER BURAK KÜÇÜKEBE

Tez Proje Danışmanı

Doç. Dr. Deniz ÖZZEYBEK

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR	i
ŞEKİL VE TABLO LİSTESİ	ii
RESİM LİSTESİ	iii
KISALTMALAR	iv
ÖZET	1
SUMMARY	3
GİRİŞ VE AMAÇ	5
GENEL BİLGİLER	7
GEREÇ VE YÖNTEM	21
BULGULAR	28
TARTIŞMA	34
SONUÇ VE ÖNERİLER	39
KAYNAKLAR	40
EKLER	48

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, hekimlik sanatının ve anesteziyolojinin temel ilkelerini öğrendiğim hocalarım; Sayın Prof. Dr. Zahide Elar'a, Sayın Prof. Dr. Emel Sağıroğlu'na, Sayın Prof. Dr. Ali Günerli'ye, Sayın Prof. Dr. Atalay Arkan'a, Sayın Prof. Dr. Erol Gökel'e,

Tez araştırmamı destekleyen, katkı ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Deniz ÖZZEYBEK'e,

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım, eğitimime katkıda bulunan bölümümüz tüm öğretim üyeleri ve uzmanlarına,

Tez araştırmamın yapımı sırasında katkı ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Işıl TEKME'ne, Yard. Doç. Dr. Güven ERBİL'e, Uzm. Dr. Tuncay KÜME'ye,

Tez araştırmama başladığım ilk günden bitimine kadar tüm çalışmalarımnda yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. Yeşim YAĞBASAN'a,

Tez araştırmamın deneysel aşaması sırasında gösterdiği yoğun çaba, verdiği büyük emek ve destek nedeniyle Dr. Adil USTAOĞLU'na, Dr. Duyguhan İŞGÜVEN'e, Dr. Efsun KOLATAN'a,

Asistanlık döneminin stresini ve güzelliklerini birlikte yaşadığımız tüm asistan arkadaşlarıma ve anestezi teknikerlerine, hemşirelere, tanıma ve çalışma fırsatı bulduğum tüm hastane çalışanlarına,

Hayatım boyunca benden desteğini, sevgisini ve sabrını esirgemeyen sevgili anneme, babama ve tüm aileme,

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr. Ö. Burak KÜÇÜKEBE

ŞEKİLVE TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1:	İskemi-reperfüzyon kaskadı	8
Şekil 2:	İskemi-reperfüzyon hasarında serbest radikallerin oluşum mekanizması	9
Şekil 3:	Lökosit-endotel etkileşimi	11
Şekil 4:	Akut akciğer hasarının erken fazında hasarlı alveol ile normal alveolün karşılaştırması	13
Şekil 5:	Deksmedetomidinin kimyasal yapısı	15
Şekil 6:	α_2 -reseptörlerin yerleşimi ve agonistlerinin etki mekanizması	16
Şekil 7:	α_2 -reseptör aracılı fizyolojik yanıtlar	17
Şekil 8:	Deney protokolünün şematik sunumu	27
Tablo 1:	Grupların TNF- α ve IL-6 değerleri, akciğer histolojik skorları	28

RESİM LİSTESİ

Sayfa No

Resim 1:	Sıçanın sol alt ekstremitesine elastik bandaj uygulanması	23
Resim 2:	Grup 1 (<i>SHAM</i>)'e ait ışık mikroskopisi görüntüsü	31
Resim 3:	Grup 2 (İ-R)'ye ait ışık mikroskopisi görüntüsü	31
Resim 4:	Grup 2 (İ-R)'ye ait ışık mikroskopisi görüntüsü	32
Resim 5:	Grup 3 (DEKS 50)'e ait ışık mikroskopisi görüntüsü	32
Resim 6:	Grup 4 (DEKS 100)'e ait ışık mikroskopisi görüntüsü	33
Resim 7:	Grup 4 (DEKS 100)'e ait ışık mikroskopisi görüntüsü	33

KISALTMALAR

İ-R	İskemi-reperfüzyon
TNF- α	Tümör nekroz faktör- α
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
SİYS	Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
ÇOYS	Çoklu organ yetersizliği sendromu
ROT	Reaktif oksijen türleri
ATP	Adenozin trifosfat
ADP	Adenozin difosfat
AMP	Adenozin monofosfat
KDH	Ksantin dehidrojenaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
H ₂ O	Su
SOD	Süperoksit dismutaz
$\cdot\text{O}_2^-$	Süperoksit anyonu
KO	Ksantin oksidaz
Ca ⁺⁺	Kalsiyum
$\cdot\text{OH}$	Hidroksil radikali
NO	Nitrik oksit
IL-1 α	İnterlökin-1 alfa
IL-8	İnterlökin-8
TxA ₂	Tromboksan-A ₂
LTB ₄	Lökotrien-B ₄
DNA	Deoksiribonükleik asit
IL-1 β	İnterlökin-1 beta
ICAM	İntersellüler adezyon molekülü
TAF	Trombosit aktive edici faktör
ÇOY	Çoklu organ yetersizliği
EDTA	Etilendiamin tetraasetikasit

ÖZET

Deneysel Alt Ekstremitte İskemi Reperfüzyon Modelinde Deksmetomidinin Akut Akciğer Hasarı Üzerindeki Etkinliğinin Araştırılması

Dr. Ömer Burak Küçükebe, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İZMİR

Amaç: Deksmetomidin; yoğun bakım ünitelerinde izlenen, entübe ve mekanik olarak ventile edilen hastaların sedasyonunda uygulanması önerilen bir α_2 -agonisttir. Az sayıdaki çalışmada deksmedetomidinin antiinflamatuvar etkinliğine ilişkin veriler elde edilmiştir. Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda alt ekstremiteye turnike uygulayarak oluşturulan iskemi-reperfüzyon modelinde farklı dozlarda uygulanan deksmedetomidinin akut akciğer hasarı üzerindeki etkinliğinin araştırılmasıdır.

Yöntem: Anestezi altındaki dişi Wistar sıçanların sol alt ekstremitelerine turnike ile üç saat iskemi ve üç saat reperfüzyon uygulandı. Çalışmaya 7'şer denekten oluşan 4 grup dahil edildi. Denekler, Grup 1 (SHAM, n=7), Grup 2 (İ-R, n=7), Grup 3 (İ-R, 50 μ g/kg Deksmetomidin, n=7), Grup 4 (İ-R, 100 μ g/kg Deksmetomidin, n=7) şeklinde gruplandı. İskeminin 2. saatinde, Grup 3'de 50 μ g/kg ve Grup 4'de 100 μ g/kg deksmedetomidin intraperitoneal olarak uygulandı. Tüm gruptaki deneklerden reperfüzyonun 1. saatinin sonunda kan örneği alındı. Üç saatlik reperfüzyonun sonunda, tüm sıçanlardan anestezi altındayken torakotomi sonrasında kan ve akciğer dokusu örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinde TNF- α ve IL-6 değerleri ELISA yöntemiyle belirlendi. Histopatolojik değerlendirme ışık mikroskopisi ile yapıldı. Akciğer hasarını tanımlayan histopatolojik kriterler dikkate alınarak dokular 0-4 arasında skorlandı.

Skorlama sistemi:

- 0:** Hasar yok
- 1:** Alanın %25'ine kadar hasarlı
- 2:** Alanın %25-50'si hasarlı
- 3:** Alanın %50-75'i hasarlı
- 4:** Diffüz hasarlı

Bulgular: Serum TNF- α ve IL-6 düzeyleri yönünden gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Akciğer hasar skorları yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,000$). Sadece İ-R oluşturulan gruptan elde edilen histolojik skorların Grup 1 ($p=0,001$), Grup 3 ($p=0,001$) ve Grup 4'den ($p=0,001$) anlamlı derecede farklı olduğu belirlendi. Ayrıca Grup 1'e ait skorların da Grup 3 ($p=0,001$) ve Grup 4'den ($p=0,011$) anlamlı olarak farklı olduğu saptandı. Deksmetomidinin farklı dozlarının uygulandığı iki grup arasında akciğer skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Sonuç: Deneysel alt ekstremite turnike modeliyle gerçekleştirilen bu çalışmada deksmedetomidinin, bu modeldeki iskemi-reperfüzyona bağlı akciğer hasarını azaltmada etkili olduğu kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Deneysel, deksmedetomidin, reperfüzyon hasarı, akut akciğer hasarı

SUMMARY

Investigation of Efficacy of Dexmedetomidine on Acute Lung Injury in Experimental Lower Limb Ischemia-Reperfusion Model

Dr. Ömer Burak Küçükebe, Dokuz Eylül University Medical Faculty,
Department of Anesthesiology and Reanimation, IZMIR

Objective: Dexmedetomidine is an α_2 -agonist which is suggested for the short-term sedation in intubated and mechanically ventilated patients monitored in intensive care units. The anti-inflammatory effects of dexmedetomidine have been showed in limited number of studies. The aim of this study is to investigate the efficacy of different doses of dexmedetomidine on acute lung injury in rat lower limb tourniquet-induced ischemia-reperfusion model.

Method: Three hours of ischemia and three hours of reperfusion were applied by tourniquet to left lower limb of anesthetized female Wistar rats. Four groups, each consisting of 7 rats were included in the study. Subjects were grouped as, Group 1 (*SHAM*, n=7), Group 2 (I-R, n=7), Group 3 (I-R, 50 μ g/kg Dexmedetomidine, n=7), Group 4 (I-R, 100 μ g/kg Dexmedetomidine, n=7). Fifty μ g/kg of dexmedetomidine in Group 3 and 100 μ g/kg of dexmedetomidine in Group 4 were administered via intraperitoneal route at the 2nd hour of ischemia. At the end of the 1st hour of reperfusion, blood samples were collected from the subjects of all groups. At the end of the three hour reperfusion time blood and tissue samples were collected following thoracotomy from all anesthetized rats. TNF- α and IL-6 concentrations were assessed by ELISA method. Histopathological examination was assessed by light microscopy. Lung injury identifying criteria were scored between 0-4.

Scoring system:

- 0:** no injury
- 1:** Injury up to 25 % of the area
- 2:** Injury of 25-50 % of the area
- 3:** Injury of 50-75 % of the area
- 4:** Diffuse injury

Results: There were no significant differences in serum TNF- α and IL-6 levels among groups. Lung injury scores were significantly different among groups ($p=0,000$). Histopathological scores of only ischemia-reperfusion generated group were significantly different than Group 1 ($p=0,001$), Group 3 ($p=0,001$) and Group 4 ($p=0,001$). Furthermore, the scores of Group 1 were significantly different than Group 3 ($p=0,001$) and Group 4 ($p=0,011$). There were no significant difference in lung scores between different dose groups of dexmedetomidine.

Conclusion: In this experimental lower limb tourniquet study, we concluded that dexmedetomidine is effective to decrease acute lung injury due to ischemia-reperfusion in this model.

Keywords: Experimental, dexmedetomidine, reperfusion injury, acute lung injury

GİRİŞ VE AMAÇ

Turnike altında gerçekleştirilen cerrahi girişimlerin yanı sıra, organ transplantasyonu, serebral iskemi, inme, miyokard infarktüsü, tromboemboli, serbest doku transferi, kardiyopulmoner *bypass* cerrahisi, vasküler cerrahi (kros klempaj), ciddi travma ve hemorajik şok gibi pek çok önemli klinik tablonun temelinde dokuya kan akımının kesildiği bir durum olarak tanımlanan iskemi ve sonrasında ortaya çıkan değişiklikler serisi olan reperfüzyon yer alır (1, 2).

İskemik hasar başlıca oksijensiz kalan hücrenin nekroz sonucunda ölümüne bağlıdır, iskemi sırasında dokuların metabolik gereksinimlerini sağlamaya yetecek miktarda oksijen sunumu yapılamaz ve anaerobik metabolizma aktive olur (3). İskemik dokuya kan akımının yeniden sağlanması olarak tanımlanan reperfüzyon paradoksal olarak hem lokal olarak iskemik dokudaki hasarı artırır, hem de sistemik etkiler sonucunda uzak organ hasarına yol açan bir inflamatuvar yanıt oluşturur (2, 3). İskemi-reperfüzyon (İ-R) hasarı olarak tanımlanan bu durumun ortaya çıkışında birçok inflamatuvar ajanın yer aldığı gösterilmiştir (2).

Sitokinlerin, İ-R hasarının uzak organlara etkilerinden sorumlu oldukları kanıtlanmıştır (4). Alt ekstremitte iskemisi sonrasında serumda ve akciğer, böbrek gibi dokularda tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlökin (IL) -1 ve IL-6 gibi sitokinlerin düzeyleri yüksek olarak bulunmuştur (5). Ortaya çıkan mediyatörlerin serbest oksijen radikali ve lökositler üzerinden, hem lokal dokuda hem de uzak organlarda hasara neden olduğu gösterilmiştir (6, 7).

Monosit/makrofaj kökenli inflamatuvar mediyatörlerin (TNF- α , IL-6, IL-1) oluşumunda noradrenalinin negatif immünregülatuar aktivitesinin olduğu ve bu aktivitenin kontrolünde β -adrenoseptörler kadar α_2 -adrenoseptörlerin de rol oynadığı klinik olarak saptanmıştır (8).

Güçlü ve ileri derecede selektif bir α_2 -adrenerjik agonist olan deksmedetomidin, medetomidinin farmakolojik olarak aktif d-izomeri olup yoğun bakımlarda sedasyon amacıyla kullanımı onaylanmış, geniş farmakolojik özellik spektrumuna sahip, sedatif ve analjezik etkili, karaciğerde metabolize olan bir ajandır (9, 10).

Deksmedetomidinin inflamatuvar yanıt modellerindeki antiinflamatuvar etkinliğine yönelik olarak yapılmış sınırlı sayıda çalışma vardır (11–20).

Yağmurdur ve ark. (18), üst ekstremitede ortopedik cerrahi sırasında turnike uygulanan hastalarda yaptıkları bir çalışmada, İ-R'a bağlı olarak artan malondialdehit ve hipoksantin düzeylerini, deksmedetomidinin lipid peroksidasyonunu inhibe ederek azalttığını göstermişlerdir.

Deksmedetomidinin İ-R'un lokal etkilerini azalttığı klinik olarak gösterilmiş olmasına karşın (18), yapılan kaynak taramasında ajanın uzak organ hasarı ve sistemik inflamatuvar yanıt üzerine etkilerini araştırmaya yönelik yapılmış gerek deneysel gerekse klinik bir çalışmaya rastlanamamıştır.

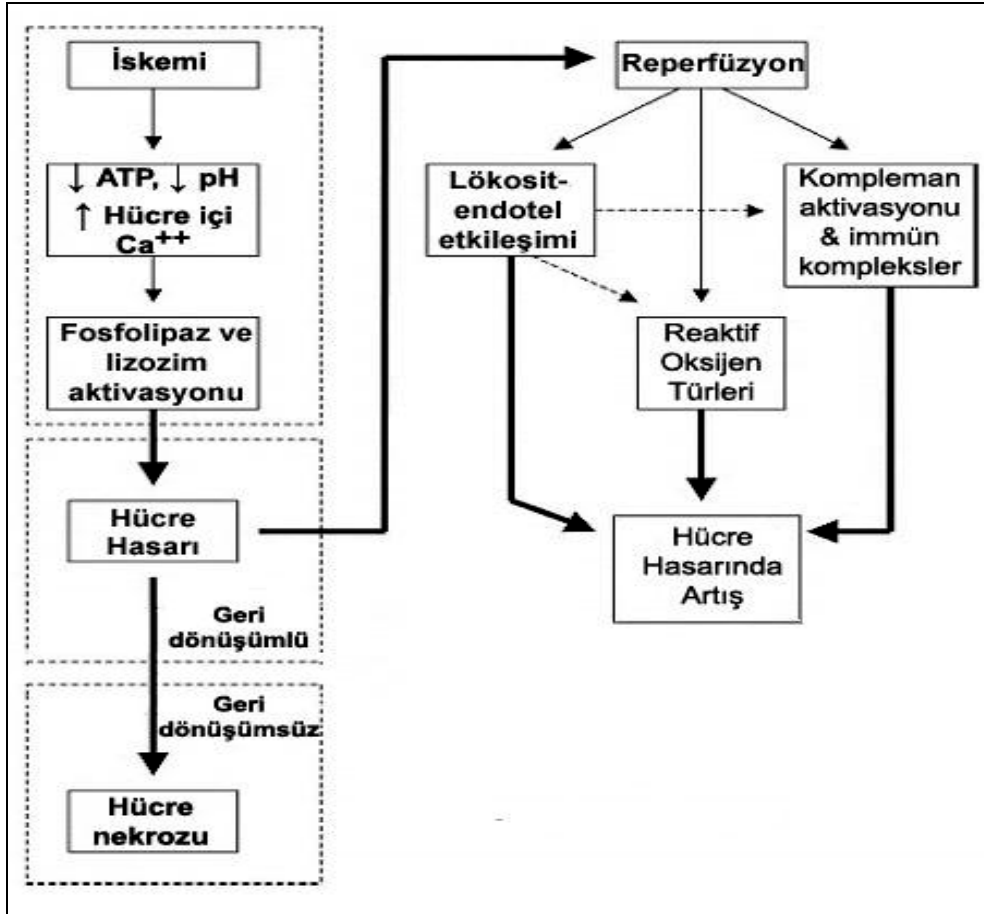
Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda alt ekstremiteye turnike uygulayarak oluşturulan deneysel İ-R modelinde, intraperitoneal yol ile farklı dozlarda (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ve 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$) uygulanan deksmedetomidinin, akut akciğer hasarı üzerindeki etkinliğinin araştırılmasıdır.

GENEL BİLGİLER

İskemi, bir organın veya vasküler yatağın kan akımında belirgin bir düşüşe bağlıdır ve uzaması halinde ciddi doku hasarı ve hücre ölümüne sebep olabilir (21). Oksijen taşıyan kandan yoksun hücrelerde, hücre sel solunum yavaşlar ve özellikle miyokard gibi hassas dokularda dakikalar içerisinde geri dönüşümsüz hasar meydana gelebilir (22). Dokunun iskemiyeye dayanıklılığı doku tipine ve hücre sel yaşa göre değişkenlik gösterir. Örneğ in, insan kas hücreleri için normotermik sıcaklıkta kritik iskemik süre 2 saatten daha uzun iken, jejunumda iskemi altında histolojik değişiklikler yaklaşık 30 dakika sonra oluşmaya başlar (23). Zamanla kan akımının yeniden sağ lanmasının, iskemik dokunun kurtarılması için temel zorunluluk olmasına karş ın, reperfüzyonun kendisi de paradoksal olarak iskemik dokuda daha fazla hasar oluşturabilir (24). İ-R hasarına bağlı durumlar klinikte akut vasküler tıkanıklıkların farklı formları (felç, miyokard infarktüsü, ekstremit e iskemisi) ve bunların reperfüzyon girişimleri (trombolitik tedavi, anjiyoplasti, operatif revaskülarizasyon) olarak karş ımıza çıkabileceğ i gibi, rutin cerrahi işlemler (ortopedik cerrahi [turnike kullanımı], vasküler cerrahi, organ transplantasyonları, serbest doku transferi, kardiyopulmoner *bypass*) ve majör travma/şok gibi klinik durumlara bağlı olarak da gelişebilir (25, 26).

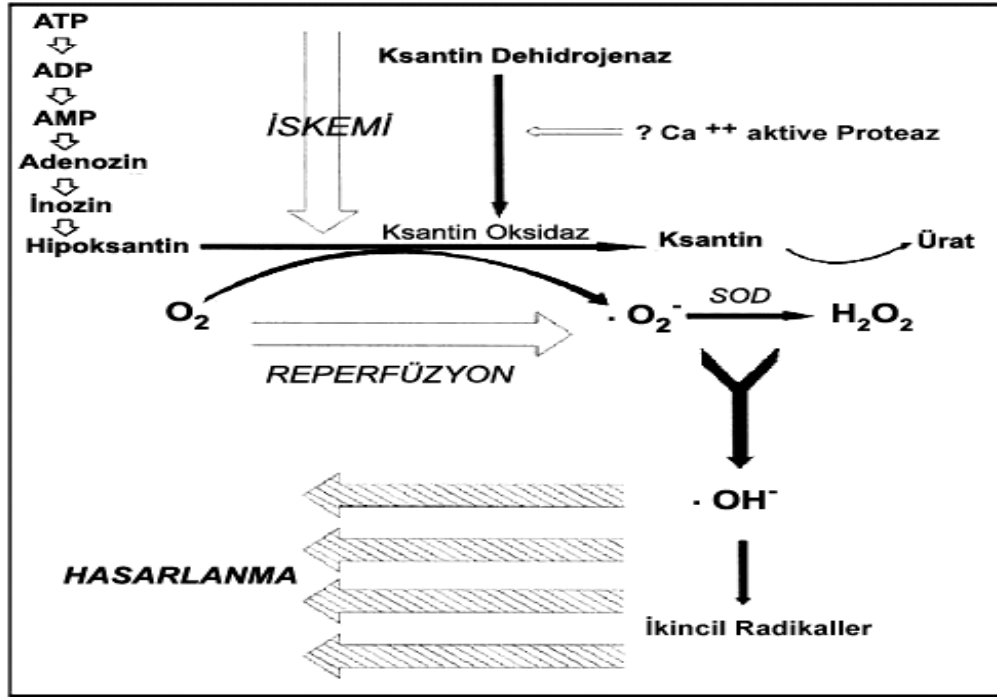
İskemik hasar esas olarak oksijenden yoksun hücre ölümüyle sonuçlanırken, reperfüzyon geniş yelpazede inflamatuvar yanıtlar oluşturarak hem lokal hasara, hem de sistemik etkiler ile kendini sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SİYS) ve çoklu organ yetersizliğ i sendromu (ÇOYS) olarak gösterebilen oldukça ağır ve ölümcül tablolara yol açabilir (27, 28). Günümüzde cerrahi ve travmayı takiben gelişen ÇOYS'un, lokal doku hasarına karş ı oluşan sistemik reaksiyonun bir belirtisi olduğ u fikri yaygın kabul görmüştür (29). Bu reaksiyon, bir dizi inflamatuvar mediyatörün üretimi ile birlikte hücre sel ve hü moral konak yanıtlarının aktivasyonunu içermektedir (21).

İskemi nedeniyle oluşmasına karşın, reperfüzyon sonucu oluşan değişiklikler iskemik hasardakilere kıyasla farklılıklar sergiler (21, 30). Uzamış iskemi ile İ-R'un karşılaştırıldığı çalışmalarda, sadece uzamış iskemiye bağlı hücre ölümü oranı %17 olarak bulunurken, bu oranın reperfüzyon ile % 73'e çıktığı belirlenmiştir (31). Uzamış iskemi endotelial disfonksiyona yol açabilir ve bu tablo reperfüzyon sırasında daha da şiddetlenebilir. Reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi oldukça karmaşıktır ve ardışık bir düzen içerisinde gelişen hücresel ve moleküler olaylar zincirinden ibarettir (32). Deneysel modellerde İ-R hasarının gelişiminde tanımlanmış olan ana mekanizmada lökosit-endotel etkileşimleri, reaktif oksijen türleri (ROT) ve kompleman sistemi yer alır ve bu temel biyolojik sistemler birbiriyle ilişkili birçok yolak ile kontrol edilir (Şekil 1) (33).



Şekil 1. İskemi-reperfüzyon kaskadı (ATP: Adenozin trifosfat, Ca⁺⁺: Kalsiyum) (33).

Enerjinin tükenmesi doku iskemisi sırasında öncelikle gelişen metabolik değişikliktir; adenzin trifosfatın (ATP) tekrar sentezinin bozulmuş olması ve enerjiden zengin fosfatların (ATP) adenzin difosfat (ADP) ve adenzin monofosfat (AMP) üzerinden adenzin ve sonunda da hipoksantine yıkımı sonucunda gerçekleşir (Şekil 2). Fizyolojik şartlarda hipoksantin, ksantin dehidrojenaz (KDH) enzimi ile ksantine dönüştürülür. Oksijen (O_2)'in %95'i mitokondride herhangi bir serbest radikal üretimi olmaksızın suya (H_2O), % 5'i ise süperoksit ($\cdot O_2^-$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi serbest radikallere indirgenir (34). Oluşan bu ROT, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz enzim sistemleri gibi yine hücre içi antioksidan savunma sistemleri yoluyla H_2O 'ya metabolize edilerek zararsız hale getirilirler (34).



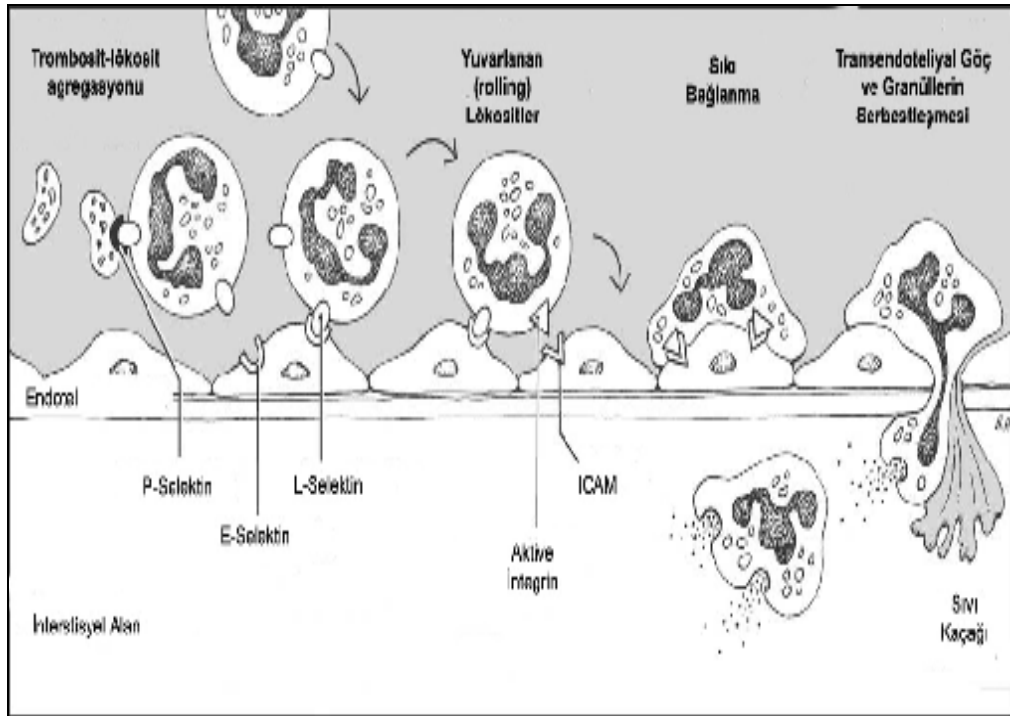
Şekil 2. İ-R hasarında serbest radikallerin oluşum mekanizması. (ATP: Adenzin trifosfat, ADP: Adenzin difosfat, AMP: Adenzin monofosfat, O_2 : Oksijen, $\cdot O_2^-$: Süperoksit anyonu, Ca^{++} : Kalsiyum, SOD: Süperoksit dismutaz enzimi, $\cdot OH$: Hidroksil radikali, H_2O_2 : Hidrojen peroksit) (35).

İskemi sırasında, KDH yapısal bir değişikliğe uğrayarak ksantin oksidaza (KO) dönüşür ve bu değişiklik hücre içi Ca^{++} artışı ile düzenlenir (35, 36). KO; hipoksantin ve O_2 'i, $\cdot O_2$ 'e dönüştürerek ROT'nin üretimini artırır (37). Bir yandan antioksidan savunma güçleri tahrip olurken, diğer yandan H_2O_2 artar ve bu artış oldukça zararlı olan $\cdot OH$ üretimine neden olur. Bu erken evrede, $\cdot OH$ hücresel zarlarda ve proteinlerde doğrudan hasara yol açar ve lipid peroksidasyonunu uyarır (31, 37).

Uzamış iskemi membran potansiyelini değiştirir, iyonların dağılımını bozar, hücre içi volümü artırır, membran akışkanlığını azaltır ve endotelial hücrelerin hücre iskeleti organizasyonunu bozar (21, 38). Bu değişikliklerin sadece hücre içi enerji depolarının tükenmesine bağlı olmadığı; prostasiklin, nitrik oksit (NO) gibi belirli hücre biyolojik aktif ajanların üretimini azalmasına ve ROT, sitokinler (TNF- α , IL-1 α , IL-8), kompleman ürünleri, araşidonik asit metabolitleri (lökotrien-B₄[LTB₄], tromboksan-A₂[Tx-A₂]) ve endotelin gibi proinflamatuvar ajanların üretimini artmasına da bağlı olduğu bildirilmiştir (38). Reperfüzyon ile oksijen desteğinin yeniden sağlanması, KO enziminin hipoksantinden $\cdot O_2$ üretebilmesini daha da kolaylaştırarak ROT üretimini paradoksal olarak artmasına yol açar (21, 39).

ROT dokularda bulunan yapısal, kontraktıl ve taşıyıcı proteinleri, enzim, reseptör, nükleik asit, hücre zarı lipiti ve glikozaminoglikan gibi birçok biyomolekülü hasara uğratabilir (36). Bunun, moleküler düzeydeki mekanizmaları arasında; nükleik asit baz hidroksilasyonu, DNA zincirlerinin çapraz bağlanması ve/veya kesilmesi, hücre zarı lipitlerinin peroksidasyonu ve proteinlerin çapraz bağlanması ve yıkımı yer alır. Hücre zarı lipitlerinin peroksidasyonu, hücre zarının yapısını bozarak hücre volüm düzensizliği sonucunda hücre lizisine neden olur (37, 40). Bunun yanı sıra, ROT mikrovasküler geçirgenliğin artışında (31) ve nötrofillerin hasarlı dokuya çekilmesinde de önemli role sahiptir (2).

İ-R hasarının patogeneğinde nötrofiller anahtar role sahiptir (41, 42). Postiskemik dokuda nötrofillerin birikimi reperfüzyon hasarına sebep olur (43). Akut inflamasyonda *in vitro* modellerin araştırıldığı çalışmaların sonuçları, lökosit bağımlı hasarın oluşabilmesi için lökositlerin göç etmesinin gerektiği ve bunun için de nötrofillerin endotelial hücrelere iyice yaklaşmaları ile başlayan nötrofil/endotel hücre etkileşimlerinin mutlak gerekliliğini vurgulamaktadır (44) (Şekil 3) (45). Bu etkileşimde ilk sırada yer alan molekül endotelial hücrelerde IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinlerin uyarması ile üretilen P-selektindir (44). Daha sonra, lökositler ile endotel arasında L-selektin aracılı, geçici ve geri dönüşümlü bir etkileşim oluşur ki bu etkileşim "lökosit yuvarlanması" olarak adlandırılır (46, 47). Yuvarlanan ve aktive olan lökositler, endotele intersellüler adezyon molekülü (ICAM)-1 ve ICAM-2 adezyon proteinleri yoluyla daha sıkı bağlanarak endotelin damar tarafından doku tarafına doğru göç ederler (46, 47).

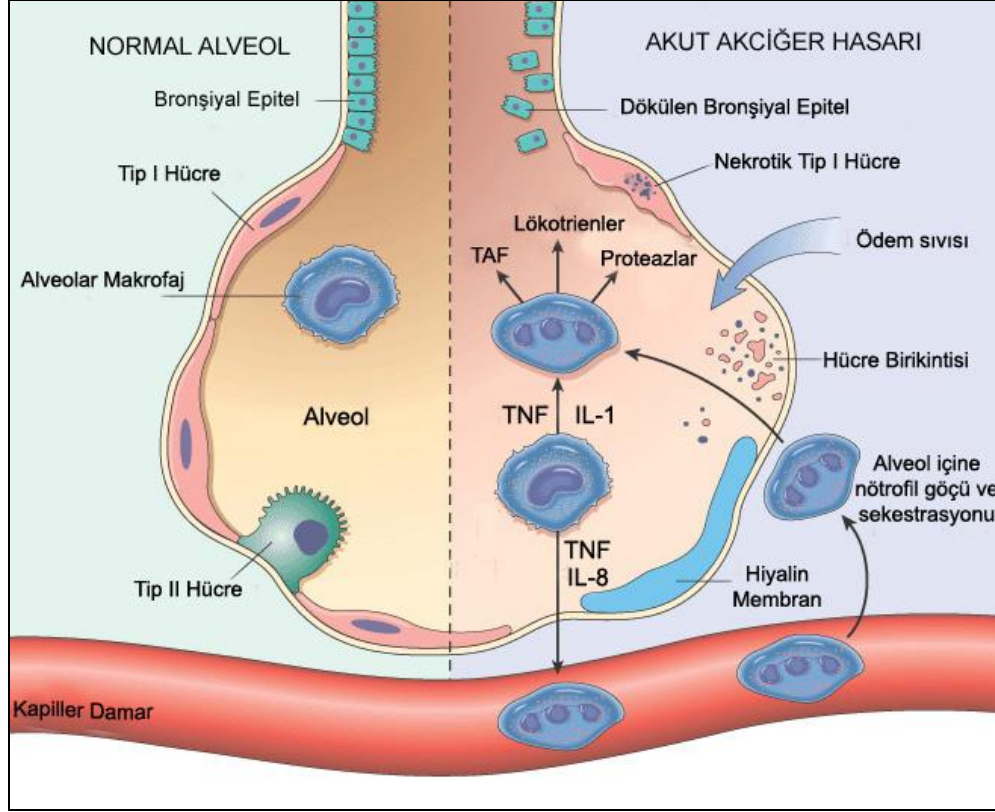


Şekil 3. Lökosit-endotel etkileşimi. (Lökositlerin damar dışına çıkışı ve interstisyel alana sıvı kaçıışı) (ICAM: İntersellüler adezyon molekülü) (45).

Damar dışına çıkan nötrofillerin postiskemik dokuda birikimi parenkimal hücre hasarına neden olur (25). Aktive olan nötrofillerden serbestleşen elastaz gibi proteolitik enzimler, ortamdaki H₂O₂ gibi oksidan ürünlerin de etkisiyle kollajen ve fibronektin gibi temel yapısal matriks proteinlerini yıkıma uğratarak endotelial yapının bozulmasına ve mikrovasküler geçirgenliğin artmasına neden olur (2). Bu olaylar, kapiller lümenin daralmasına ve hücreler arası ödem ile kendini gösteren hidrolik direncin artmasına yol açarak mikrovasküler düzeyde perfüzyon yetersizliği oluşturur. Bu durum “akım olmaması” fenomeni olarak tanımlanır ve lokal kan akımı yetersizliğini gösterir. “Akım olmaması” fenomeninin şiddeti iskeminin şiddeti ve süresine bağlıdır (48).

İ-R hasarı klinikte lokal olarak kas ödemi, kompartman sendromu, kas nekrozu ve fonksiyon bozukluğu şeklinde ortaya çıkar (49). Lokal hasar sırasında ve sonrasında dokudan kana geçen miyogloblin gibi maddeler ve LTB₄, TxA₂, TNF- α , IL-1 β , IL-6, aktive kompleman bileşenleri gibi inflamatuvar mediyatörler uzak organlarda fonksiyon bozukluğuna neden olur (49, 50). Uzak organlardan klinik olarak ilk belirti verenler akciğerler ve böbreklerdir. Bu organların yanı sıra, karaciğer, miyokard ve santral sinir sistemi fonksiyonlarının da etkilenmesiyle ÇOYS tablosu gelişebilir (49).

Akciğerlerde meydana gelen hasar klinik olarak, akciğer damarsal yapılanmasındaki geçirgenlik artışına bağlı oluşan akut solunum yetersizliği tablosuyla karakterlidir (51). Akciğer hasarının temelinde, iskemik doku tarafından uyarılmış mediyatörler ile aktive edilmiş nötrofillerin pulmoner yatakta birikimi ile karakterli nötrofil sekestrasyonu yer alır (50) (Şekil 4) (52). İskelet kasının İ-R’u sonrasında nötrofillerin seçici olarak akciğerlerde birikmesinden sorumlu olan mekanizma açık değildir. Postiskemik ekstremitte kasları tarafından üretilen proinflamatuvar sitokinlerin; nötrofillerin ya da uzak organ endotellerinin yüzeyindeki adezyon moleküllerini arttırarak nötrofillerin karşılaştıkları ilk mikrovasküler yatakta sekestre olmalarına yol açtıklarını öne süren mekanizma en olası mekanizma gibi görünmektedir (47).



Şekil 4: Akut Akciğer Hasarında hasarlı alveol ile normal alveolün (sol taraf) karşılaştırması. (Proinflamatuvar sitokinler (IL-8, IL-1 ve TNF- α gibi) etkisiyle nötrofiller akciğer mikrodolaşımında sekestre olur ve alveollere göç ederek aktive olurlar) (TAF: Trombosit aktive edici faktör, TNF: Tümör nekroz faktör, IL-1: İnterlökin-1, IL-8: İnterlökin-8) (52).

Hücre çoğalmasının, farklılaşmasının ve fonksiyonunun değiştirilmesi yoluyla inflamasyonun tüm evrelerini etkileyen sitokinler (3), İ-R sonrasındaki uzak organ hasarının belirleyicileri olarak rol oynarlar. Alt ekstremitte iskemisi sonrasında TNF- α , IL-1 ve IL-6 düzeylerinin serumda, akciğer ve böbrek gibi sistemik organlarda arttığı gösterilmiştir (5). Bu sitokinler arasında özellikle TNF- α ve IL-1 β (53) SİYS'un esas mediyatörleri iken, IL-6 inflamasyondaki ve bağışıklık yanıtındaki akut faz protein reaksiyonunun düzenlenmesinden sorumlu ana mediyatör gibi görünmektedir (54). IL-6, hücre adezyonunu uyardığı gibi endotelial geçirgenliği de artırır ve sistemik olarak kolaylıkla saptanabilir (55). TNF- α , kapillerlerin geçirgenliğini artırarak akciğer

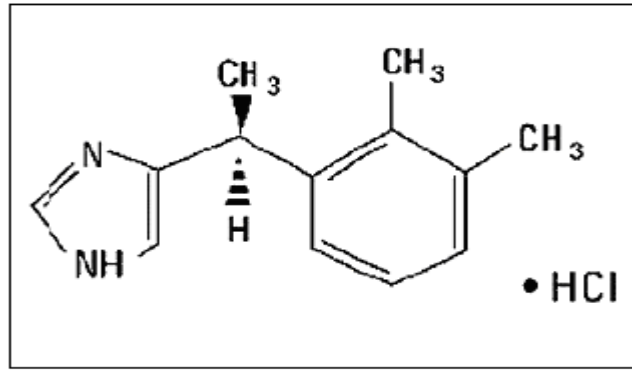
ödemine ve metabolik asidoza neden olabilir (56). Septik şok patogenezinde odak rol oynaması nedeniyle reperfüzyondan sonra görülen benzer patolojilerin gelişiminden ve buna bağlı çoklu organ yetersizliği (ÇOY)'nden sorumlu olabileceği düşünülmektedir (56). Farklı organlardaki İ-R hasarının patogenezinde TNF- α 'nın ana rol oynadığı gösterilmiştir (57). Ayrıca, sıçanlardaki alt ekstremitte İ-R modellerinde yapılan birçok çalışma, İ-R'dan sonra görülen akciğer hasarının patogenezinde TNF- α 'nın önemli rol oynadığını bildirmektedir (2, 5, 58, 59).

Sıçan alt ekstremitte İ-R modelinde, Yassin ve ark. (7), alt ekstremitedeki akut İ-R'un sitokin aktivasyonuna ve eş zamanlı olarak özellikle akciğerler, karaciğer ve böbreklerin yer aldığı ÇOY'ne neden olduğunu ve bunun serum TNF- α ve IL-6 düzeylerindeki artış ile gösterilebileceğini bildirmişlerdir. Çalışmacılar, TNF- α ve IL-6 düzeylerini, 3 saatlik iskemiye izleyen 1, 2 ve 3 saatlik reperfüzyon dönemlerini farklı gruplarda uygulayarak değerlendirmişler ve TNF- α düzeylerinin 3 saatlik iskemiye izleyen 1 saatlik reperfüzyon sonunda anlamlı olarak arttığını, reperfüzyonun 2. saatinde TNF- α düzeylerinin kontrol düzeylerine gerilediğini saptamışlardır. Aynı çalışmada, IL-6 düzeylerinin ise 1 saatlik reperfüzyondan itibaren kademeli ve istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmaya başladığı ve 3 saatlik reperfüzyonun sonunda tepe düzeylere ulaştığı belirlenmiştir. Bu çalışmada ayrıca, akciğer dokusundaki kapiller konjesyon ve nötrofil birikimi ile değerlendirilen hasarın sadece 3 saat reperfüzyon oluşturulan grupta anlamlı olarak ortaya çıktığı belirtilmiştir.

Günümüzde İ-R hasarının önlenmesi amacıyla her geçen gün yeni bir tedavi stratejisi geliştirilmekte, deneysel ve klinik çalışmalar ile birçok farklı ilacın koruyucu ve/veya tedavi edici etkinliği araştırılmaktadır (60). Tek mediyatör (TAF, TNF- α , IL-1, oksijen radikalleri, P-selektin, ICAM-1 gibi) inhibisyonu prensibine dayanan yöntemlerin deneysel olarak organ hasarları üzerine koruyucu etkinliği araştırılmış, ancak elde edilen veriler kliniğe uyarlanamamıştır. Özellikle organ transplantasyonları gibi İ-R hasarıyla sık karşılaşılan klinik durumlarda tedavi edici ve koruyucu girişimlere yönelik birçok klinik çalışma yapılmış, statinler, eritropoetin, hemoksijenaz-1, L-glisin, kortikosteroidler, granülosit koloni stimulan faktör ve aprotinin gibi maddelerin bu hasardaki koruyucu etkinliği araştırılmıştır (60).

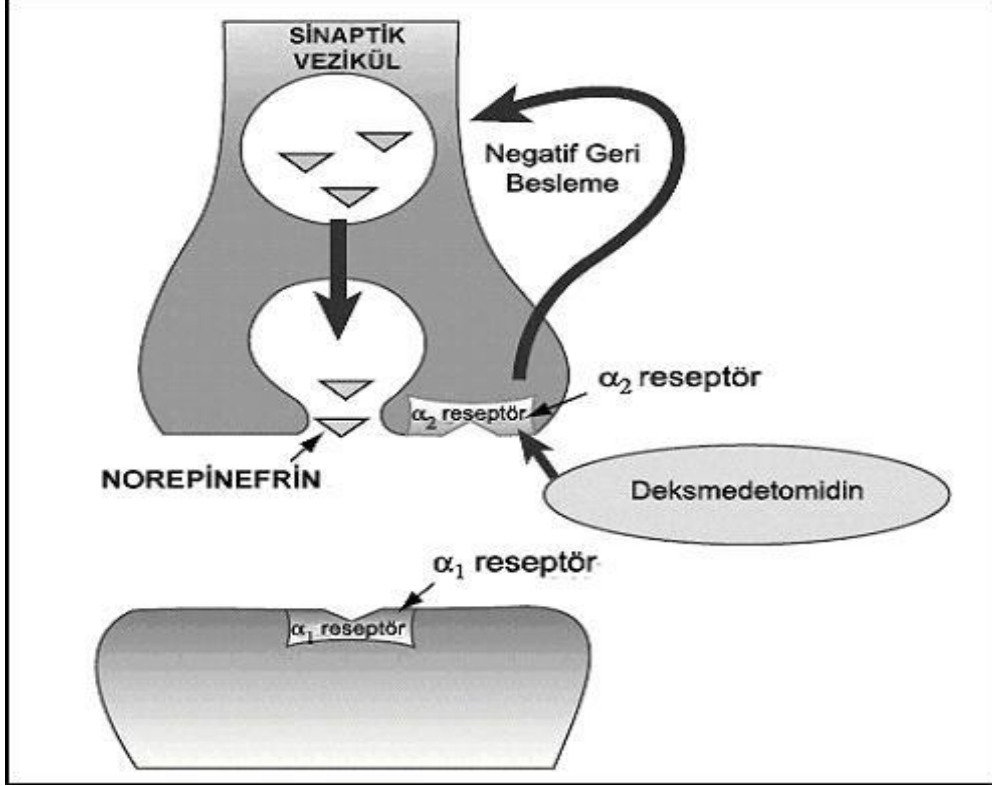
Yine deneysel olarak melatonin (52), antitrombin-III (29), kafeik asit fenetil ester (62), takrolimus (63) gibi birçok ilacın İ-R hasarındaki koruyucu etkinlikleri, esas endikasyonları dışında, olası etki mekanizmaları nedeniyle araştırılmıştır. Bunların yanı sıra, anestezide kullanılan propofol (64), ketamin (65), deksmedetomidin (65) gibi anestezi ilaçlarının antiinflamatuvar etki potansiyelleri gözönünde bulundurularak İ-R'un lokal ve uzak organ hasarları üzerindeki koruyucu etkinliklerinin araştırıldığı çalışmalar da gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, hem deneysel hem de klinik çalışmalarda iskemik önkoşullama yöntemiyle organ hasarlarının azaltılabileceği gösterilmiştir (66, 67). Deneysel ve klinik İ-R hasarını önlemede etkili olduğu belirlenen ilaç ya da uygulamalar günümüzde rutin uygulama alanına girmemiştir. Bu konudaki optimal yaklaşım arayışları sürmektedir.

Deksmedetomidin, farmakolojik olarak medetomidinin dekstroizomeri olan, α_2 -adrenerjik reseptörler üzerinde selektif ve spesifik agonistik etkiye sahip bir imidazol bileşiğidir (68) (Şekil 5) (10).



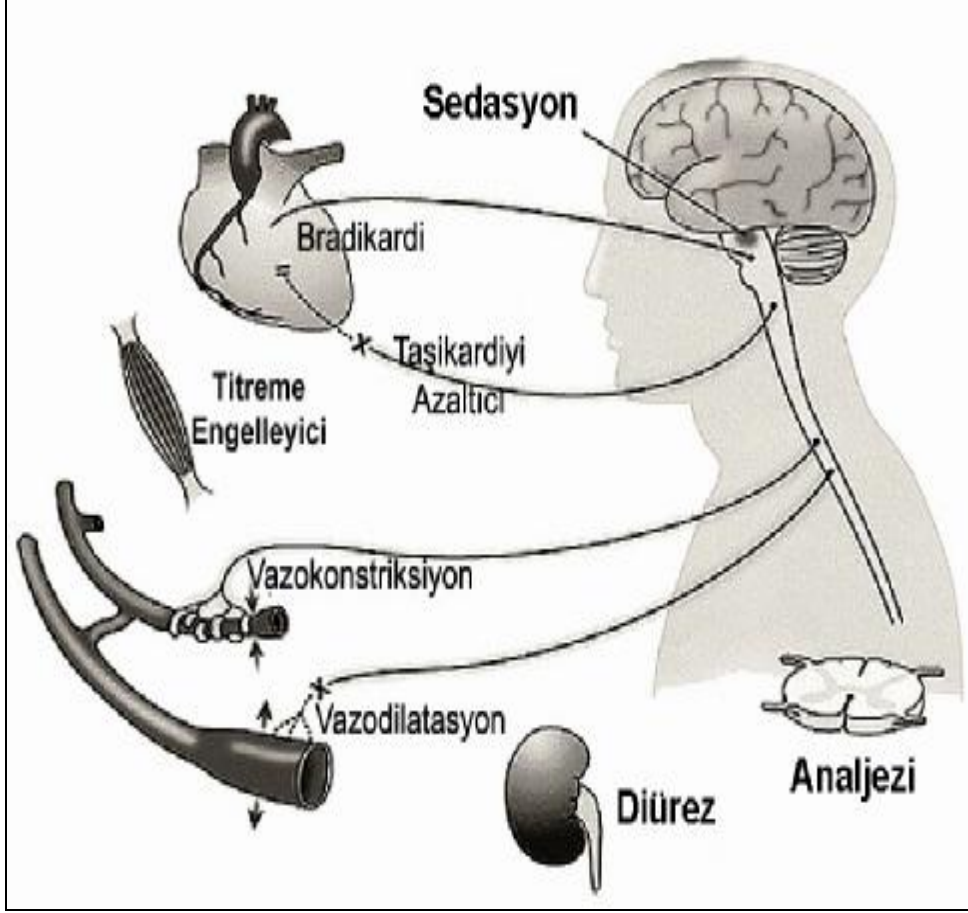
Şekil 5: Deksmedetomidinin kimyasal yapısı (10).

α_2 -reseptörler, çoğunlukla sinir terminallerinin presinaptik bölgesinde yerleşerek nörotransmitterlerin serbestleşmesini düzenler, postsinaptik ve sinaps dışı bölgelerde de bulunabilirler. Presinaptik α_2 -reseptörler negatif geri besleme mekanizması ile norepinefrinin ve ATP'in serbestleşmesini düzenledikleri için klinik olarak daha fazla öneme sahiptirler (Şekil 6) (68).



Şekil 6: α_2 -reseptörlerin yerleşimi ve agonistlerinin etki mekanizması (68).

Beyinde ve spinal korddaki postsinaptik α_2 -reseptörlerin aktivasyonu nöronal ateşlemeyi inhibe ederek, hipotansiyon, bradikardi, sedasyon ve analjeziye yol açar. Genel olarak, α_2 -adrenoseptörlerin presinaptik aktivasyonu norepinefrin serbestleşmesini inhibe ederek ağrı sinyallerinin ilerlemesini sonlandırır. Santral sinir sistemindeki α_2 -reseptörlerin postsinaptik aktivasyonu sempatik aktiviteyi inhibe ederek sistemik arter basıncını ve kalp atım hızını düşürebilir. Bu etkilerin tümü birlikte düşünüldüğünde, α_2 -reseptörlerin uyarılmasıyla analjezi, sedasyon ve anksiyolizin bir arada oluştuğu söylenebilir. α_2 -reseptör aracılı yanıtlar Şekil 7'de sunulmuştur (68).



Şekil 7: α_2 -reseptör aracılı fizyolojik yanıtlar (68).

α_2 -reseptörlerin yüksek yoğunlukta bulunduğu yerlerden biri olan lokus seruleus, beyinde predominant noradrenerjik çekirdektir ve uyanıklığın önemli bir düzenleyicisidir. α_2 -adrenoseptörlerin, hipnotik ve sedatif etkiler oluşturabilmesinin santral sinir sisteminin bu bölgesinin aktivasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu bulgular deksmedetomidinin sedatif ve antinosiseptif etkilerini lokus seruleustaki α_2 -reseptörleri uyarak oluşturduğunu göstermektedir (69).

Deksmedetomidin doğrudan karaciğerde hemen hemen tam biyotransformasyona uğrar, esas olarak idrarla atılır ve çok az bir kısmı ise idrarla veya feçesle değişmeden atılır. Eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 2 saattir. Farmakokinetik profilinde cinsiyete veya yaşa bağlı önemli değişiklikler oluşmadığı gibi, böbrek yetersizliği olan hastalarda da farmakokinetiği değişiklik göstermemektedir (68).

Deksmedetomidin ile yapılan çalışmaların büyük kısmı ilacın sedatif ve analjezik etkilerine yöneliktir. Ancak α_2 reseptörlerin organizmadaki dağılımları (Şekil 7) göz önünde bulundurulduğunda, farklı etkilerinin olabileceği düşünülerek yapılan çalışmalarda diğer potansiyel etkileri de araştırılmıştır.

Elvan ve ark. (70), intraoperatif deksmedetomidin infüzyonunun postoperatif titreme üzerine etkinliğini araştırmış ve intraoperatif deksmedetomidin uygulanmasının anestezi sonrasında görülen titreme insidansını ve şiddetini, herhangi bir klinik yan etki oluşturmadan anlamlı olarak azalttığını göstermişlerdir.

İskemik ve toksik inflamatuvar yanıt modellerinde yapılmış sınırlı sayıdaki çalışmada, deksmedetomidinin antiinflamatuvar etki gösterdiği belirlenmiştir (11–20).

Taniguchi ve ark. (11), sıçanlarda oluşturdukları endotoksine bağlı şok modelinde deksmedetomidinin hemodinamik parametreler, arteriyel kan gazları ve plazma sitokin konsantrasyonları üzerine etkisini incelemişler ve akciğer dokusunda nötrofil infiltrasyonunu değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, deksmedetomidinin IL-6 ve TNF- α düzeylerini azaltarak inflamatuvar yanıtları inhibe ettiğini, alveol duvarlarında nötrofil infiltrasyonunu azalttığını, mortalite oranlarını düşürdüğünü ve bu etkilerini doza bağımlı olarak (12) oluşturduğunu belirtmişlerdir.

Venn ve ark. (13), majör cerrahi sonrası yoğun bakım ünitesinde izlenen ve postoperatif dönemde 8 saat süreyle sedasyon amacıyla propofol veya deksmedetomidin uygulanan 20 hastada adrenokortikal fonksiyonları, kardiyovasküler, endokrin ve inflamatuvar yanıtları incelemişlerdir.

Sekiz saatin sonunda, kanda adrenokortikotropik hormon, prolaktin, kortizol ve glukoz düzeyleri açısından iki grup arasında fark saptamamışlar, deksmedetomidin uygulanan grupta IL-6 düzeyinin azaldığını belirlemişlerdir.

Hoffman ve ark. (14), inkomplet serebral iske mi modelinde, iskemiden 30 dakika önce intraperitoneal yolla farklı iki dozda deksmedetomidin (10µg/kg ve 100 µg/kg) uygulamasının nörolojik hasar üzerindeki etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında; deksmedetomidin uygulanan gruplarda nörolojik hasarın doza bağımlı olarak azaldığını göstermişlerdir. Bu çalışmada ayrıca, α₂-adrenerjik antagonist olan atipamezol kullanılarak deksmedetomidinin iskemik hasar üzerindeki iyileştirici etkilerinin tamamen ortadan kalktığı gözlenmiştir. Buna dayanılarak, deksmedetomidinin iske miye bağımlı nörolojik hasarı iyileştirme mekanizmasının α₂-reseptörler üzerinden sempatik aktivitenin azaltılmasına bağımlı olduğu sonucuna varmışlardır.

Kumagai ve ark. (15), sıçanlarda deksmedetomidinin intrakraniyal hipertansiyona bağımlı oluşan nörojenik pulmoner ödem üzerine etkilerini araştırmışlar ve intravenöz yolla uygulanan deksmedetomidinin aşırı sempatik aktivite sonucu gelişen akciğer geçirgenliğini ve sıçanlarda intrakraniyal hipertansiyon ile uyarılan hemodinamik değişiklikleri azalttığını göstermişlerdir.

Sıçanlarda gerek fokal (16) gerekse global (17) serebral İ-R modellerinin kullanıldığı çalışmalarda deksmedetomidinin, hem iskemik hasarı azaltarak hem de plazma TNF-α konsantrasyonlarını düşürerek (17) nöroprotektif etki gösterdiği saptanmıştır.

Yağmurdur ve ark. (18), turnike altından üst ekstremitte cerrahisi uygulanan hastalarda deksmedetomidinin İ-R hasarı üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında; kan malondialdehit ve hipoksantin düzeylerinin deksmedetomidin (1 µg/kg 10 dakika, idame 0,5 µg/kg/saat) uygulanan grupta anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir.

Yang ve ark. (19), sıçanlarda ventilatör ilişkili akciğer hasarında deksmedetomidinin akciğer inflamasyonu üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, yüksek tidal volüm ventilasyonuna bağlı olarak gelişen akciğer hasarında deksmedetomidinin klinik dozlarının 10 katı dozlarda (5 µg/kg/saat.) infüzyon şeklinde kullanıldığında akciğer hasarını anlamlı olarak azalttığını ve bu etkilerinin kısmen de olsa α_2 -reseptör aracılı olduğunu göstermişlerdir.

Kocoglu ve ark. (20), deneysel renal İ-R modelinde deksmedetomidinin böbrek hasarı üzerindeki koruyucu etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, intraperitoneal yolla 100 µg/kg dozunda uygulanan deksmedetomidinin İ-R'a bağlı böbrek hasarını azalttığını göstermişlerdir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu deneysel çalışma, Dokuz Eylül üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulu onayı alınmasının ardından, Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Çalışmada Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan sağlanan ağırlıkları 250 – 340 gr arasında değişen 28 adet erişkin, dişi, Wistar-Albino cinsi sıçan kullanıldı. Araştırma başlangıcına kadar deney hayvanları ortama adaptasyonları sağlanması için 12 saat aydınlık–12 saat karanlık ortamda tutuldu ve standart pellet yemi ve suyla beslendi. Sıçanlar ısı ve ışık standardize edilmiş şartlarda barındırıldı.

Denekler, sadece su içmelerine izin verilerek cerrahi işlemde önce 12 saat aç bırakıldı. Sıçanlar rastgele olarak 4 gruba ayrıldı. Deney öncesinde her biri ayrı ayrı tartılarak ağırlıkları belirlendi, uygulanacak anestezi ilaçlarının ve deksmedetomidinin dozları hesaplandı.

Sıçanlarda anestezi, intraperitoneal 50 mg/kg ketamin (Pfizer Pharma GMBH, Germany) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Alfazyne %2, Egevet) karışımı ile sağlandı. Denekler çalışma sonunda histolojik doku örneği ve yeterli kan örneği alındıktan sonra sakrifiye edildi. Tüm gruplarda toplam çalışma süreleri eşit tutuldu.

Denekleri hipotermiden korumak ve vücut sıcaklıklarını 36,8–37,5°C arasında tutabilmek amacıyla operasyon masası ısıtıldı, ortam sıcaklığı sabit tutuldu. Dehidratasyonun önlenmesi için İ-R süresince denekler, subkutan izotonik sodyum klorür solüsyonu (3 mL/kg/saat) ile hidrate edildi.

Deney Grupları ve Protokol

Her biri 7 sıçandan oluşan 4 grup oluşturuldu:

Grup 1 (SHAM, n=7): Çalışma boyunca sadece anestezi uygulanarak reperfüzyonun birinci saatine uyan zamanda sadece kan örneği ve reperfüzyon süresinin bitimine uyan zamanda doku ve kan örneği alındı.

Grup 2 (İ-R, n=7): Anestezi sonrası sol alt ekstremiteye turnike uygulanması ile 3 saat iskemi ve 3 saat reperfüzyon uygulandı, çalışma ilacı verilmedi. Reperfüzyonun birinci saatine uyan zamanda sadece kan örneği ve reperfüzyon süresinin bitimine uyan zamanda (reperfüzyonun üçüncü saati) doku ve kan örneği alındı.

Grup 3 (Deks 50;İ-R+50 µg/kg Deksmedetomidin, n=7): Anestezi sonrası sol alt ekstremiteye turnike uygulanması ile 3 saat iskemi ve 3 saat reperfüzyon uygulandı. Turnike açılmadan 1 saat önce 50 µg/kg deksmedetomidin (Precedex, Abbott Laboratories Ltd. North Chicago ABD, 100µg/mL) intraperitoneal yolla verildi. Reperfüzyonun birinci saatine uyan zamanda sadece kan örneği ve reperfüzyon süresinin bitimine uyan zamanda (reperfüzyonun üçüncü saati) doku ve kan örneği alındı.

Grup 4 (Deks 100;İ-R+100 µg/kg Deksmedetomidin, n=7): Anestezi sonrası sol alt ekstremiteye turnike uygulanması ile 3 saat iskemi ve 3 saat reperfüzyon uygulandı. Turnike açılmadan 1 saat önce 100 µg/kg deksmedetomidin intraperitoneal yolla verildi. Reperfüzyonun birinci saatine uyan zamanda sadece kan örneği ve reperfüzyon süresinin bitimine uyan zamanda (reperfüzyonun üçüncü saati) doku ve kan örneği alındı.

Alt ekstremite iskemisi için daha önce bir tez çalışmasında da kullanılmış ve etkinliği perfüzyon sintigrafisiyle gösterilmiş olan yöntem (71) uygulandı. Bu amaçla deneklerin sol arka bacak kasık bölgesinden elastik bandaj (1 cm eninde ve 30 cm boyunda) ile çepeçevre basınç uygulandı (7, 28, 71) (Resim 1). Belirlenen iskemi süresi sonunda turnike açılarak reperfüzyon sağlandı.



Resim 1. Sıçanın sol alt ekstremitesine elastik bandaj uygulanması

Anestezi altındayken, 3 saatlik reperfüzyonun birinci saatinin sonunda sıçanların kuyruk veninden 1,5 mL kan alınarak TNF- α ve IL-6 analizi için steril/apirojen, etilendiamin tetraasetikasit (EDTA) içeren tüplere koyuldu, 1200 devir/dakika hız ile 10 dakika santrifüj edildi. Örneklerin plazmaları ayrılarak Eppendorf tüplere koyuldu ve dondurularak -70°C'de analiz gününe kadar saklandı. Sıçanlara kaybettikleri volüme eşdeğer olacak şekilde izotonik sodyum klorür solüsyonu intraperitoneal yolla verildi. Reperfüzyonun üçüncü saatinin sonunda toraks subdiyafragmatik yaklaşımla açıldı. IL-6 ve TNF- α analizi için 2 mL hacimde kan örneği doğrudan kalpten alındıktan sonra, birinci saatte alınan kanlarla aynı yöntemle saklandı. Çalışır durumdaki kalbe 20G iğneli enjektör ile apekten girilerek % 10 formol çözeltisinden 5 mL yavaş olarak infüze edilerek denekler sakrifiye edildikten sonra kalp ve akciğer piyesi eksize edildi (72). Sağ akciğerin orta zonundan bir kesit ve sol akciğerin tümü % 10 formol çözeltisi içerisine koyularak en az 24 saat fikse edilmeleri sağlandı.

İnflamatuvar Mediyatörlerin Tayini:

İnflamatuvar mediyatörlerin (TNF- α ve IL-6) tayini ELISA yöntemiyle yapıldı. Invitrogen (Kaliforniya, A.B.D) firmasının ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) prensibine dayanan ticari testi (kat. No: KRC 3011, kat. No: KRC 0061) kullanılarak sıçan serumlarında kantitatif analiz yapıldı. Örnek ön hazırlık ve test uygulama basamakları Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı Biyokimya Bölümü'nde gerçekleştirildi ve buradaki plak yıkayıcı cihazından yararlanıldı. Absorbans değerleri 450 nm'de ELISA plak okuyucu cihazında (Organon Technica Microwell System Reader 230S) ölçüldü. Sonuçlar pg/mL olarak ifade edildi.

Histopatolojik Değerlendirme:

%10'luk formaldehit ile tespit edilen akciğer dokuları, fiksatifin uzaklaştırılması amacıyla 1 gece akarsu altında yıkandıktan sonra, dehidratasyon amacıyla 20'şer dakika %70, %80 ve %96'luk etil alkol serilerinden geçirildi. Ardından aseton ve ksilen

serilerinden geçirildi. 60°C'lik etüv içersinde parafin ile immersiyonu sağlandıktan sonra dokular parafin bloklar içerisine gömüldü.

Mikrotom (Reichert-Jung) aracılığı ile alınan 5µ'luk parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde bırakıldıktan sonra, 30'ar dakika iki değişim ksilene tabi tutuldu. Ardından rehidratasyon işlemi için %96'dan %70'e azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler distile su ile yıkandı. 2 dakika hematoksilen (33230, Riedel-de Haen, Almanya) ile boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 5 dakika akarsuda yıkanan kesitler, 30 saniye eozin (1345, Merck, Darmstadt, Almanya) boyası ile boyandı. Aynı şekilde 5 dakika akarsu altında yıkama yapıldıktan sonra sırasıyla %70, %80 ve %96'lık alkol serilerinden geçirilip havada kurutulan kesitler şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Almanya) ile kapatıldı.

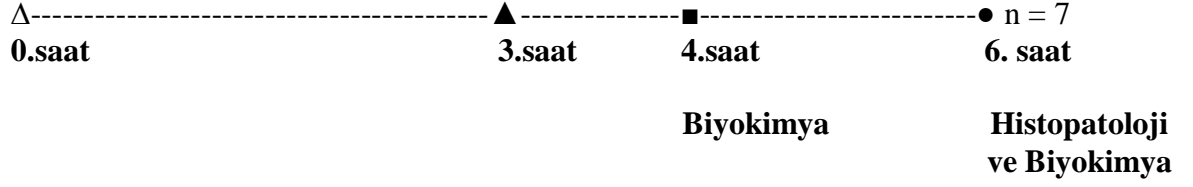
Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda (Olympus BH-2) 200 büyütmede, her denek için rastgele seçilen 6 alanda; alveolar ve interstisyel hemoraji, alveolar ve interstisyel nötrofil infiltrasyonu, ödem ve atelektazi gibi akciğer hasarını tanımlayan histopatolojik kriterler dikkate alınarak incelendi ve dokular 0-4 arasında skorlandı (73).

Skorlama sistemi:

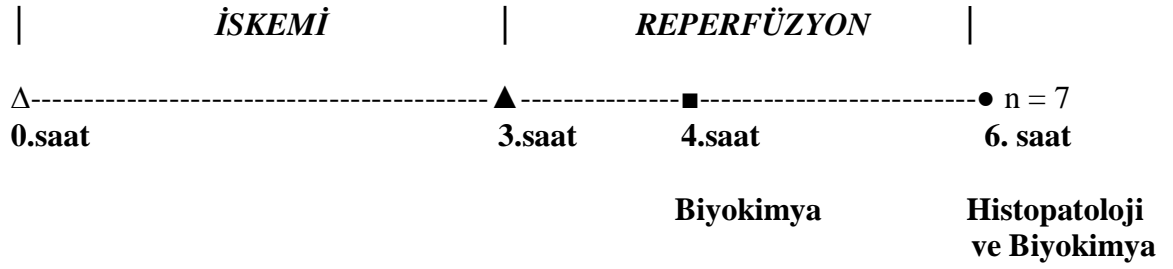
- 0:** Hasar yok
- 1:** Alanın %25'ine kadar hasarlı
- 2:** Alanın %25-50'si hasarlı
- 3:** Alanın %50-75'i hasarlı
- 4:** Diffüz hasarlı

Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde, SPSS Windows 11.0 programından yararlanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar için Krukall Wallis ve ki kare; grupların tekli karşılaştırmaları için Mann-Whitney *U* testleri kullanıldı, gerektiğinde Bonferroni düzeltmesi uygulandı ve $p < 0,05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

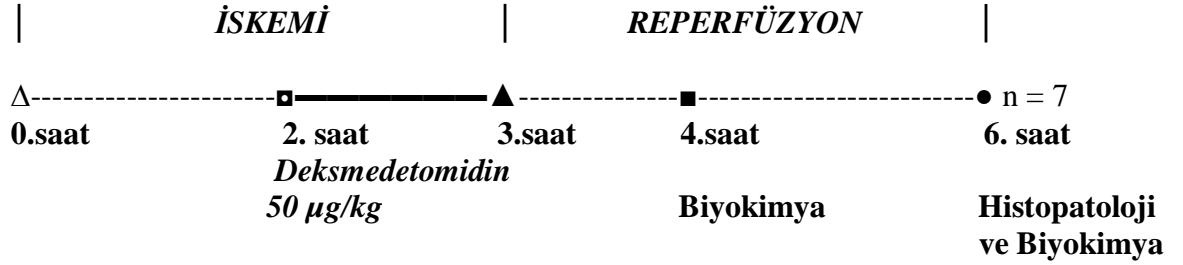
GRUP 1 (SHAM)



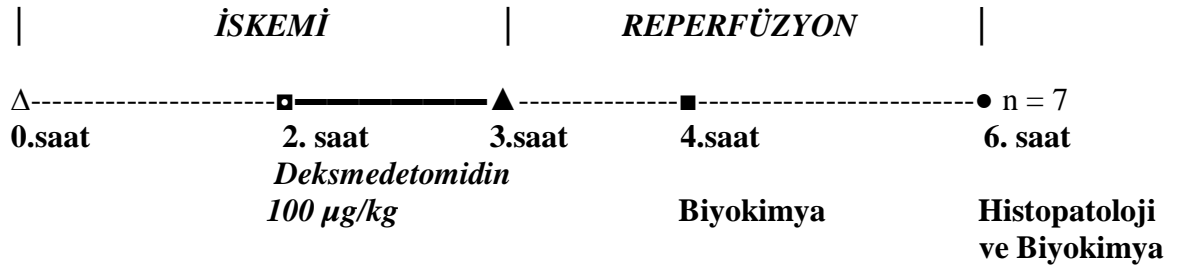
GRUP 2 (İ-R)



GRUP 3 (DEKS 50)



GRUP 4 (DEKS 100)



Şekil 8. Deney protokolünün şematik sunumu.

BULGULAR

Bu çalışma, 7'şer sıçandan oluşan 4 gruptaki toplam 28 sıçanda gerçekleştirildi.

Reperfüzyonun 1. ve 3. saatlerine ait TNF- α ve IL-6 değerleri ile akciğer dokusuna ait histoloji skorları Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Grupların TNF- α ve IL-6 Değerleri, Akciğer Histolojik Skorları (ortanca [min.-maks.])

		Grup 1 (SHAM) n=7	Grup 2 (İ-R) n=7	Grup 3 (DEKS 50) n=7	Grup 4 (DEKS 100) n=7	p
TNF-α (pg/mL)	Reperfüzyon 1. saat	9,40 (7,40-11,50)	10,10 (9,10-25,30)	9,70 (8,30-10,90)	9,70 (7,70-10,60)	0,55
	Reperfüzyon 3. saat	9,30 (8,20-10,90)	9,80 (9,30-22,90)	10,20 (8,70-11,80)	9,00 (8,90-12,10)	0,26
IL-6 (pg/mL)	Reperfüzyon 1. saat	27,10 (21,60-41,30)	17,30 (13,20-52,60)	19,00 (15,80-58,00)	25,20 (20,00-48,90)	0,11
	Reperfüzyon 3. saat	32,70 (21,60-64,70)	61,20 (17,40-120,30)	24,40 (14,00-91,80)	31,80 (21,40-47,70)	0,83
HİSTOLOJİK SKOR		0,5** (0,0-1,0)	4,0* (4,0-4,0)	2,5 (2,0-3,0)	2,0 (0,5-3,5)	0,000

* Grup 2'de Grup 1, 3 ve 4'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark

** Grup 1'de Grup 3 ve 4'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark

Gruplara ait TNF- α ve IL-6 düzeylerinin karşılaştırılmasıyla, reperfüzyonun gerek 1. saatinde gerekse de 3. saatinde serum TNF- α ve IL-6 düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Akciğer hasarı histolojik skorlarının istatistiksel analizi, incelenen 6 mikroskopik alan skorunun ortanca değerleri üzerinden yapıldı.

Akciğer hasar skorları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,000$). Grup 2 (İ-R)'deki tüm örneklerde diffüz hasar (skor 4) olduğu gözlemlendi.

Sadece İ-R oluşturulan Grup 2'den elde edilen histolojik skorların gerek *SHAM* grubundan ($p=0,001$), gerekse çalışma ilacının farklı dozlarının kullanıldığı Grup 3 ($p=0,001$) ve Grup 4'den ($p=0,001$) anlamlı derecede farklı olduğu belirlendi. Ayrıca Grup 1'e ait skorların da Grup 3 ($p=0,001$) ve Grup 4'den ($p=0,011$) istatistiksel olarak anlamlı olarak farklı olduğu saptandı.

Deksmetomidinin farklı dozunun uygulandığı Grup 3 ve 4 arasında akciğer skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Histolojik skordardan elde edilen bu veriler doğrultusunda;

- İ-R'a bağlı belirgin akciğer hasarının olduğu,
- deksetomidinin oluşan bu akciğer hasarını azalttığı ancak tümüyle ortadan kaldıramadığı

belirlendi.

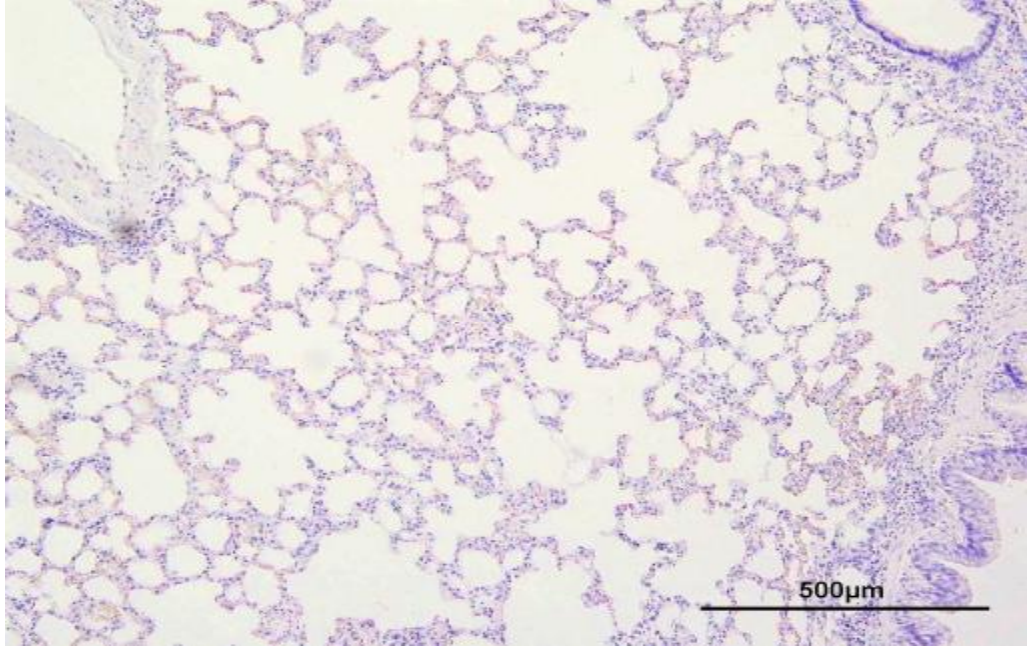
Işık mikroskopisi ile yapılan değerlendirmelerde;

Grup 1'den alınan kesitlerde; akciğer dokusunun gerek alveolar diziliminin, perialveolar alandaki yapıların ve hücrelerin, gerekse interstisyel alanların normal olduğu görüldü (Resim 2).

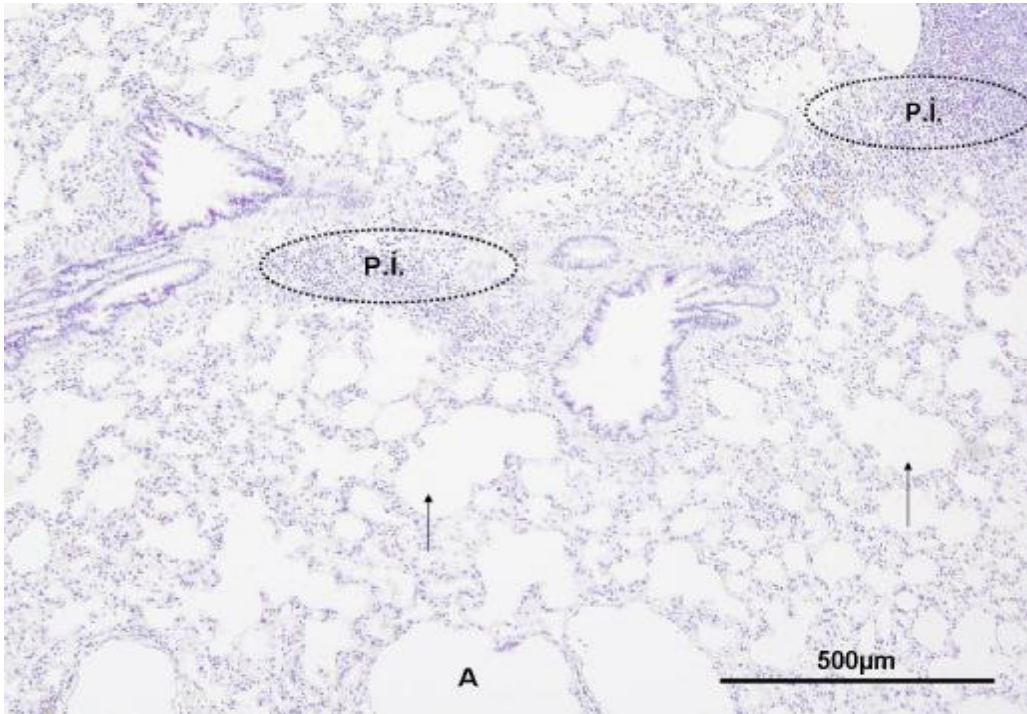
Grup 2'den alınan kesitlerde; interstisyel ve intraalveolar nötrofil infiltrasyonu, hemoraji, interalveolar septal kalınlaşma, interstisyel ödem, yaygın amfizem alanları ve konjesyon gözlemlendi. Büyük büyütmede çok nadir düzgün havalandan alveoller yanı sıra çoğunlukla havalandan kaybı olan atelektazik ve kapiller stazın yoğun olduğu bölgeler, kollabe olmuş alveoller, nonfonksiyonel parenkimal alanlar, bu alanlarda yoğun parenkimal nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu, kapiller staz olan bölgelerde yaygın intraalveolar hemoraji ve yer yer de fibrozis alanları olduğu gözlemlendi (Resim 3,4).

Grup 3'den alınan kesitlerde; yaygın interstisyel nötrofil infiltrasyonu, İ-R (Grup 2) grubuna göre daha az olarak interalveolar septal kalınlaşma, atelektazi, konjesyon, hemoraji ve amfizem alanları gözlemlendi. Hafif parenkimal artış ve nötrofil infiltrasyonuna karşın, komşu alanlarda sağlıklı akciğer yapısı olduğu gözlemlendi. Bazı alanlarda yoğun parenkimal hemoraji, amfizemli alanlar ve peribronşiyal infiltrasyon yanında daha sağlıklı akciğer alanlarının da olduğu belirlendi (Resim 5).

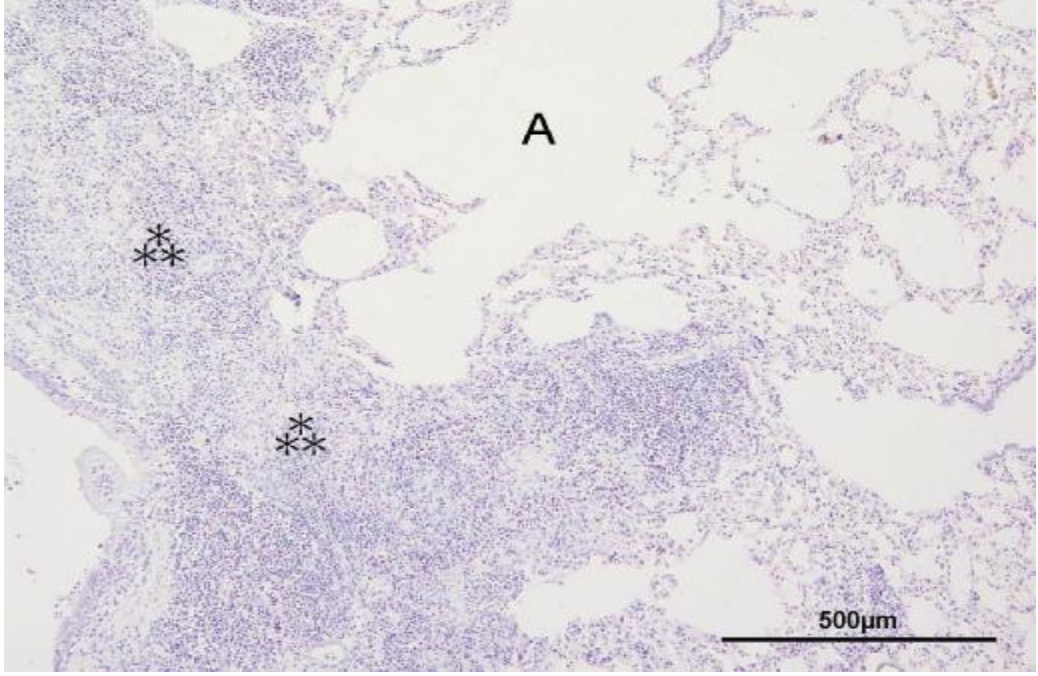
Grup 4'den alınan kesitlerde; sağlıklı alveolar yapının yanında yer yer hafif düzeyde interstisyel nötrofil infiltrasyonu, İ-R (Grup 2) grubuna göre çok daha az olarak interalveolar septal kalınlaşma, atelektazi, konjesyon, hemoraji olduğu gözlemlendi. Bazı alanlarda ise *SHAM* (Grup 1) grubunda olduğu gibi, tamamen sağlıklı alveolar yapının olduğu belirlendi (Resim 6,7).



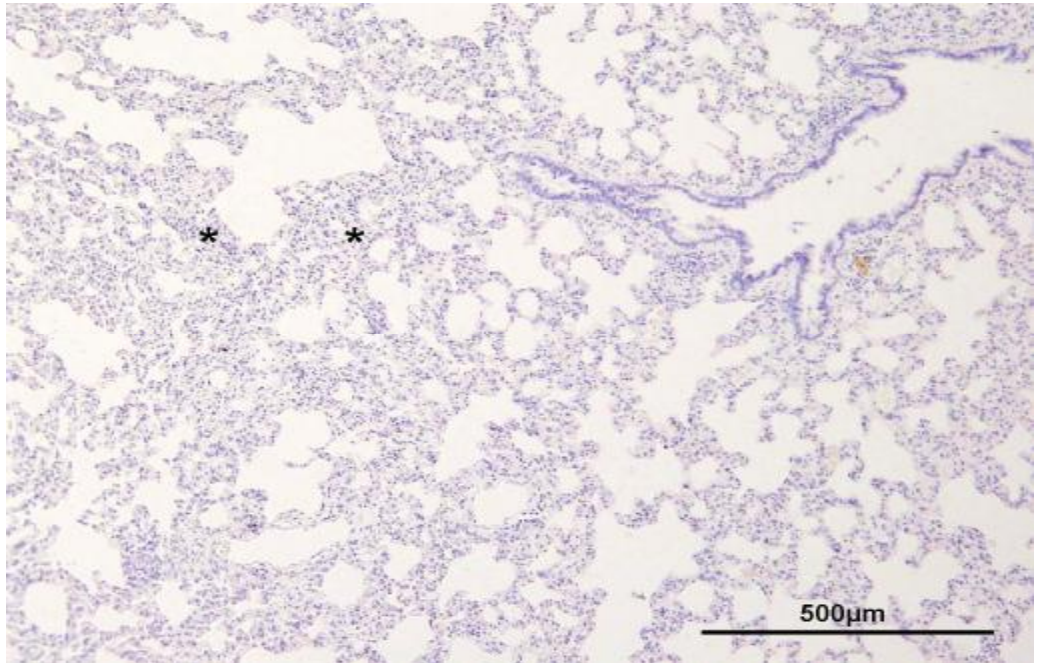
Resim 2. Grup 1 (*SHAM*)'e ait ışık mikroskopisi görüntüsü (Sağlıklı havalandırılan akciğerin normal yapısı).



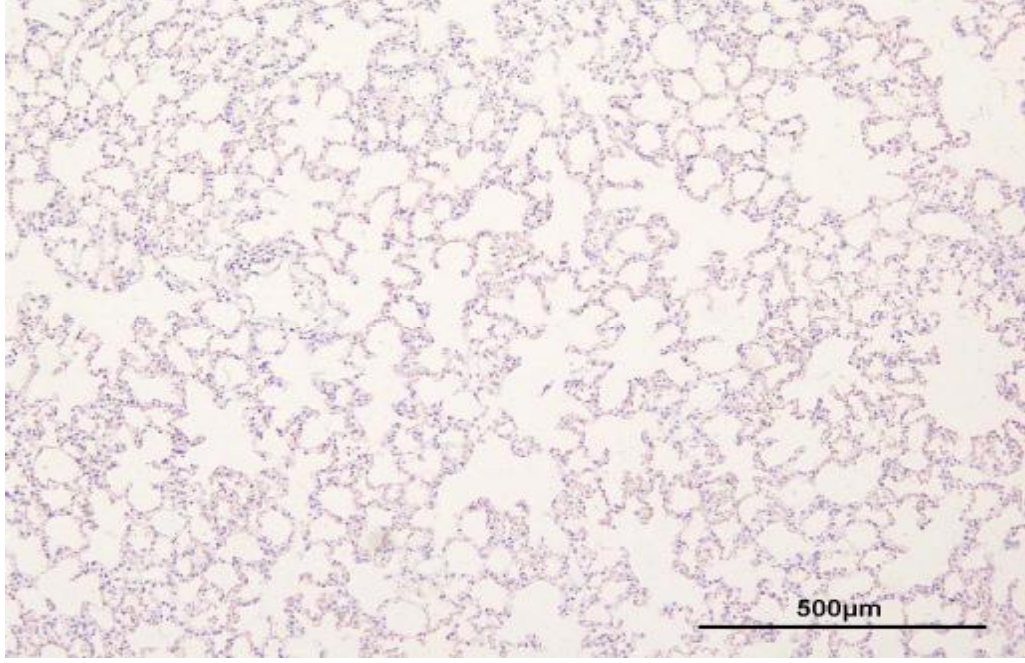
Resim 3. Grup 2 (I-R)'ye ait ışık mikroskopisi görüntüsü (Alveolar yapı düzenini kaybetmiş (↑), amfizematöz değişiklikler (A), parenkimal yangısal hücre infiltrasyonu [Pİ]).



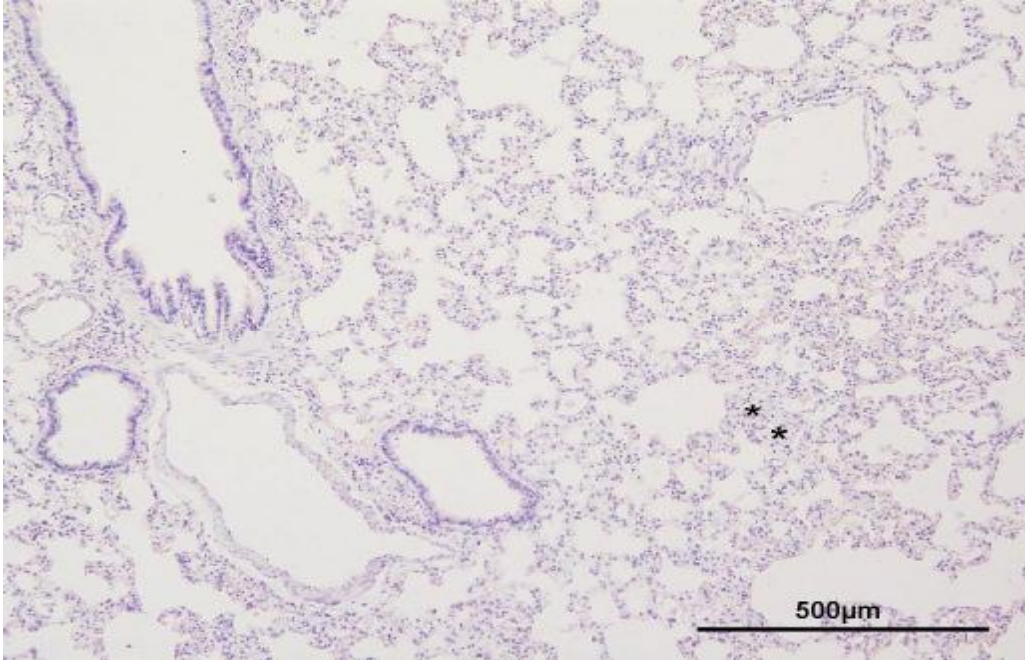
Resim 4: Grup 2 (İ-R)'ye ait ışık mikroskopisi görüntüsü (Yoğun nötrofil infiltrasyonu, parenkimal artış, havalanmayan akciğer alanları (*) ve atelektazik alanlar [A]).



Resim 5. Grup 3 (DEKS 50)'e ait ışık mikroskopisi görüntüsü (Parenkimal artış ve nötrofil infiltrasyonuna (*) karşın, komşu alanlarda sağlıklı akciğer yapısı).



Resim 6. Grup 4 (DEKS 100)'e ait ışık mikroskopisi görüntüsü (Sağlıklı alveolar yapının görüldüğü alanlar)



Resim 7. Grup 4 (DEKS 100)'e ait ışık mikroskopisi görüntüsü (Hafif düzeyde yangısal infiltrasyon ve kalınlaşmış interalveolar septum (*) yanında sağlıklı akciğer alanları).

TARTIŞMA

Alt ekstremite İ-R'una bağlı akciğer hasarını önlemede deksmedetomidinin etkinliğinin araştırıldığı bu deneysel çalışmada, İ-R oluşturmak amacıyla turnike yöntemi kullanılmıştır. Turnike modelinin uzamış mekanik kompresyon sonucunda venöz ve lenfatik oklüzyon, kas, sinir zedelenmesi gibi etkiler yaratabileceği kaygısıyla İ-R oluşturulmasında multipl ligasyon modelini savunan çalışmacılar olmasına karşın (59, 74), son yıllarda kliniğe uygulanabilirliği ve noninvaziv oluşu nedeniyle turnike yönteminin daha sık kullanıldığı dikkati çekmiştir (7, 29, 66).

Bu çalışmada turnike yönteminin etkilerinin araştırılmasında; kolay temin edilebilmesi, deneysel İ-R modellerinin kullanıldığı ve deksmedetomidinin antiinflamatuvar etkinliğinin incelendiği çalışmalarda daha çok sıçan kullanılmış olması ve bu çalışmada yer alan araştırmacıların sıçanlarda daha çok deneyiminin bulunması nedeniyle deney hayvanı olarak sıçan seçilmiştir (7, 11, 12, 19, 75).

Ekstremitelerde İ-R oluşturmak üzere turnike yönteminin kullanıldığı çalışmalarda, farklı iskemi ve reperfüzyon sürelerinin yeğlenmiş olması dikkat çekici bulunmuştur. Bu çalışmalarda iskemi süresinin, etkilenmesi beklenen organların iskemiye dayanıklılığı temel alınarak belirlendiği gözlenmiştir. Örneğin, kas dokusunda belirgin morfolojik değişikliklerin 2 saatlik iskemiden sonra oluşmaya başlaması nedeniyle, iskelet kası İ-R hasarının değerlendirildiği çalışmalarda çoğunlukla daha uzun iskemi süreleri tercih edilmiştir (33, 76, 77). İskemi süreleri ile iskemik hasarlanma arasında önemli bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (78). İ-R hasarının hedef dokusu olarak iskelet kasının seçildiği çalışmalarda, 3 saatlik iskemik dönemden sonra kas dokusunda geri dönüşümsüz histolojik hasarlanmanın başladığı (77) ve yaygın nötrofil birikiminin oluştuğu (29) şeklindeki veriler göz önünde bulundurularak bu çalışmada iskemi süresinin 3 saat olarak uygulanmasına karar verilmiştir.

İ-R'un gerek lokal, gerekse uzak organlara etkilerinin araştırıldığı deneysel çalışmalarda, oluşan hasarın derecesinin reperfüzyon süresine de bağlı olduğu belirlenmiştir (2, 7, 33). Turnike yöntemi ile 3 saatlik iskeminin ardından farklı reperfüzyon sürelerinin uzak organlardaki etkilerini araştıran Yassin ve ark. (7), reperfüzyon süresinin uzaması ile uzak organ fonksiyon bozukluklarının artışı arasında paralellik olduğunu gözlemişlerdir. Aynı çalışmada, çalışmacılar akciğer dokusundaki histopatolojik değişikliklerin 1 ve 2 saatlik reperfüzyon sürelerinde oluşmadığını, ancak 3 saatlik reperfüzyonun sonunda saptanabilir düzeylere ulaştığını belirlemişlerdir. Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada 3 saatlik iskeminin ardından 3 saatlik reperfüzyon süresi seçilmiştir ve çalışmamızda, 3 saatlik reperfüzyon süresinin sonunda sadece İ-R uygulanan gruptaki deneklerin akciğerlerinde yaygın nötrofil infiltrasyonu, alveolar dizilim bozukluğu, alveoller arası ödem oluşumu gibi değişikliklerle karakterli ciddi akciğer hasarı bulgularının oluştuğunun saptanması bu bilgileri destekler nitelikte bulunmuştur. Bu bulguların, aynı sürelerin kullanıldığı çalışmalardakilerle benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (7, 29).

TNF- α 'nın, SİYS ve septik şokla ilişkili ÇOY patogenezinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (5, 26, 79). İ-R'a bağlı lokal ve uzak organ hasarında da benzer mekanizmaların rol oynayabileceği düşünülerek yapılan çalışmalarda, TNF- α 'nın İ-R ile ilişkili birçok organ hasarının patogenezinde önemli rol oynadığı belirlenmiştir (3, 7, 53, 66, 67). Benzer şekilde IL-6'nın da travma, şok ve enfeksiyona bağlı kompleks inflamatuvar yanıtta yer aldığı belirtilmiştir (54). Plazma IL-6 konsantrasyonları ile yumuşak doku hasarının büyüklüğü arasında doğru orantılı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (54). Alt ekstremité İ-R modellerinin araştırıldığı çalışmalarda plazma IL-6 düzeylerinin, TNF- α düzeylerine paralel olarak artış gösterdiği belirtilmiştir (5, 6). Yassin ve ark. (7), İ-R'a bağlı sistemik inflamatuvar yanıtın serum TNF- α ve IL-6 düzeylerindeki artış ile gösterilebileceğini ve bu artış ile uzak organ hasarının büyüklüğü arasında paralellik olduğunu saptamışlardır. Çalışmacılar, TNF- α ve IL-6 düzeylerini 3 saatlik iskemiye izleyen 1, 2 ve 3 saatlik reperfüzyon dönemlerini farklı gruplarda uygulayarak değerlendirmişler ve TNF- α düzeylerinin 3 saatlik iskemiye izleyen 1 saatlik reperfüzyon sonunda anlamlı olarak arttığını, reperfüzyonun 2.

saatinde TNF- α düzeylerinin kontrol düzeylerine gerilediğini saptamışlardır. Aynı çalışmada, IL-6 düzeylerinin ise 1 saatlik reperfüzyondan itibaren kademeli ve istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmaya başladığını ve 3 saatlik reperfüzyonun sonunda tepe düzeylere ulaştığını belirlemişlerdir. Bu bilgiler doğrultusunda, çalışmamızda TNF- α ve IL-6 düzeyleri reperfüzyonun hem 1. saatinin hem de 3. saatinin sonunda değerlendirilmiştir.

Analjezik, anksiyolitik, sedatif özellikleri tek başına gösterebilmesi nedeniyle, deksmedetomidinin olası etkilerinin araştırıldığı çok sayıda deneysel ve klinik çalışma gerçekleştirilmiştir (80-82). Ayrıca, deksmedetomidinin gerek iskemik gerekse toksik inflamatuvar modellerdeki etkinliğinin araştırıldığı sınırlı sayıdaki çalışmada deksmedetomidinin antiinflamatuvar etkilerinin de olduğu gösterilmiştir (11, 12). Deneysel endotoksemik septik şok modelinde, Taniguchi ve ark. (11), deksmedetomidinin TNF- α ve IL-6 düzeylerini düşürerek ve alveol duvarlarındaki nötrofil infiltrasyonunu azaltarak akciğer hasarını hafiflettiğini ve mortalite oranlarını azalttığını belirlemişlerdir.

Sıçanlardaki İ-R modellerinde deksmedetomidinin etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda, deksmedetomidinin intraperitoneal yolla İ-R'dan önce (14, 65, 83) ya da infüzyon şeklinde İ-R boyunca (16–18) uygulanmış olduğu belirlenmiştir. Deksmetomidinin bu çalışmalarda farklı zamanlarda uygulanmış olmasına ve her birinde de koruyucu etkinliğinin gösterilmiş olmasına karşın, ajanın uygulama zamanlarının birbirlerine üstünlüklerinin karşılaştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. Ayrıca, intraperitoneal yolla verilen deksmedetomidinin etkinliğinin araştırıldığı bazı çalışmalarda, uygulanan İ-R sürelerinin deksmedetomidinin eliminasyon yarı ömründen daha uzun olmadığı gözlenmiştir (14, 17, 65). İ-R'a bağlı akciğer hasarındaki başlıca sorumlu sürecin reperfüzyon olması (7) ve TNF- α 'nın iskemi döneminin sonuna doğru yükselmeye başlayarak reperfüzyonun 1. saatinde tepe düzeylere ulaşması (7) dikkate alınarak, çalışmamızda deksmedetomidinin reperfüzyondan 1 saat önce verilmesi uygun görülmüştür.

Gerek İ-R modellerinde, gerekse de diğer inflamatuvar yanıt çalışmalarında deksmedetomidinin etkinliğinin belirlenmesi için uygulanması gereken doz aralığına yönelik kesin bir bilgiye rastlanamamıştır. Bu çalışmada intraperitoneal yolla uygulanan deksmedetomidin dozu, literatürde güvenle kullanıldığı bildirilen en yüksek doz olan 100 µg/kg (14, 20, 65, 83, 84) olarak belirlenmiş ve olası koruyucu etkinliğinin doza bağımlı olup olmadığını araştırmak amacıyla ikinci doz 50 µg/kg olarak seçilmiştir.

Turnike yöntemiyle sıçan ekstremite İ-R'a bağlı akciğer hasarının araştırıldığı çalışmalarda benzer İ-R sürelerinin kullanılmasına karşın TNF-α düzeylerine ilişkin farklı sonuçlar elde edildiği gözlenmiştir (5, 29, 67, 85). Örneğin, aynı İ-R yöntemini ve benzer İ-R sürelerini kullanan çalışmacılardan Seekamp ve ark. (5), TNF-α düzeylerinin 4 saatlik iskemi boyunca plazmada saptanabilir düzeylere ulaşmadığını, reperfüzyonun 1. saatinde artış gösterdiğini ve 2. saatten sonra düşmeye başladığını saptamışlardır. IL-6 düzeylerinin ise reperfüzyonun 30. dakikasında yükselmeye başladığını ve giderek artarak 4. saatin sonunda en yüksek düzeylere ulaştığını belirlemişlerdir Yassin ve ark. (7), TNF-α ve IL-6 düzeylerinin reperfüzyonun sırasıyla, 1. ve 3. saatinin sonunda en yüksek değerlerine ulaştığını; TNF-α düzeylerinin reperfüzyonun 2. saatinden sonra saptanabilir düzeylerin altına düştüğünü ve IL-6 düzeylerinin de reperfüzyonun 1. saatinden itibaren plazmada saptanabilir değerlere ulaştığını ifade etmişlerdir.

Duru ve ark. (29), Harkin ve ark. (67) ile Gaines ve ark. (58), aynı İ-R modelini ve benzer İ-R sürelerini kullandıkları çalışmalarında histopatolojik bulgularla ortaya koydukları İ-R hasarına bağlı olarak TNF-α düzeylerinde herhangi bir değişiklik oluştuğunu gösterememişlerdir. Benzer şekilde, Welbourn ve ark. (85), dört saatlik iskemiye izleyen 10, 30, 60, 120, 180, 240 dakikalık reperfüzyon sürelerinin sonunda TNF-α düzeylerinde anlamlı artış saptayamamışlardır. Çalışmacılar, anti-TNF serumu uyguladıkları gruplarda akciğerlerde histopatolojik değişikliklerin azalması nedeniyle TNF-α'nın akciğer hasarının oluşumunda rol oynadığı sonucuna varmışlardır. Bizim çalışmamızda da deksmedetomidin uygulanan gruplarda *SHAM* grubuna kıyasla histopatolojik olarak anlamlı fark olduğunun belirlenmesine karşın, TNF-α ve IL-6

düzeylerinde herhangi bir değişiklik elde edilememiştir. Önerilen ölçüm zamanlarının kullanılmasına karşın bir değişiklik saptanamamasının olası nedenlerinden biri denek sayısının yetersizliği olabilir. Benzer sonuçlar elde eden Duru ve ark. (29), sitokin düzeylerinde bir değişiklik saptayamamış olmalarını, kan örneklerini reperfüzyonun 2. saatinin sonunda almış olmalarından ötürü serum TNF- α tepe değerlerini yakalayamamış olmalarından kaynaklanabileceğini öne sürmüşlerdir. Gaines ve ark. (58) ise bu sonucu örnek yetersizliğine bağlamışlardır. Bu bulgulara ilişkin olarak Welbourn ve ark. (85), TNF- α 'nın akciğer makrofajlarında üretildikten sonra sadece doku içinde kalabildiğini ve her zaman plazmada saptanabilir olamayabileceğini; lokal etki ile endoteli aktive ederek akciğer hasarı oluşumuna aracılık edebileceğini öne sürmüşlerdir.

Bu çalışmada turnike modeliyle oluşturulan İ-R'a bağlı akciğer hasarının oluştuğu histopatolojik olarak gösterilebilmiştir. İ-R grubundaki değişikliklerin hem *SHAM* grubundan, hem de ilaç gruplarından anlamlı derecede farklı oluşu, modelin doğru uygulandığını göstermiştir. Deksmetomidin uygulanan gruplarda bulguların İ-R grubundakinden anlamlı derecede farklı oluşu deksetomidinin akciğer hasarını azalttığı şeklinde yorumlanmıştır. İlaç gruplarıyla *SHAM* grubu arasındaki farkın da anlamlı bulunması ilacın akciğer hasarını tümüyle engelleyemediğini telkin etmiştir.

Deksetomidinin 50 ve 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'lık farklı iki dozunun uygulandığı gruplardaki histolojik skorlar arasındaki farkın anlamlı bulunmamasına karşın, ilacın 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dozda kullanıldığı DEKS 100 grubunda mikroskopik olarak yer yer normal akciğer dokularına rastlanmış olması ilacın doza bağımlı olarak etki gösterdiğini telkin etmiştir. Bu etkinin ortaya konabilmesi için daha büyük denek gruplarında, deksetomidinin farklı zamanlarda ve farklı yollarla uygulanmasının araştırılmasına gereksinim olduğu kanısına varılmıştır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak deneysel alt ekstremite turnike modelinde gerçekleştirilen bu çalışmada deksmedetomidinin, bu modeldeki İ-R'a bağlı akciğer hasarını önlemede etkili olduğu kanısına varılmıştır. İlaç grupları arasında gerek histopatolojik verilerde, gerekse IL-6 düzeylerinde istatistiksel olmasa da sayısal bir fark gözlenmesi ilacın doza bağımlı etkilerinin daha büyük denek gruplarında araştırılması gerekliliğini telkin etmiştir.

KAYNAKLAR

1. Cerra FB, Lajos TZ, Montes M. Hemorrhagic infarction: a reperfusion injury following prolonged myocardial ischemic anoxia. *Surgery* 1975;78(1): 95-104
In: Linfert D, Chowdhry T, Rabb H. Lymphocytes and ischemia-reperfusion injury. *Transplant Rev (Orlando)* 2009; 23(1): 1–10.
2. Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS et al. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg* 1991;78(6): 651-5.
3. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994;81(5): 637-47.
4. Vilcek J. Basic cytokine biology. *The Cytokine Handbook*. Vol.1 4th ed. London, UK: Elsevier Science Academic Pres 2003;3-18.
5. Seekamp A, Mulligan MS, Till GO, Ward PA. Requirements for tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 in limb ischemia/reperfusion injury and associated lung injury. *Am J Pathol* 1993;143(2): 453-63.
6. Seekamp A, Till GO, Mulligan MS, Paulson JC et al. Role of selectins in local and remote tissue injury following ischemia and reperfusion. *Am J Pathol* 1994;144(3): 592-8.
7. Yassin MM, Barros D'Sa AA, Parks G, Abdulkadir AS et al. Lower limb ischemia-reperfusion injury triggers a systemic inflammatory response and multiple organ dysfunction. *World J Surg* 2002;26(1): 115-21.
8. Maes M, Lin A, Kenis G, Egyed B, Bosmans E. The effects of noradrenaline and alpha-2 adrenoceptor agents on the production of monocytic products. *Psychiatry Res* 96(3): 245-53.
9. Venn RM, Bryant A, Hall GM, Grounds RM. Preliminary UK experience of dexmedetomidine a novel agent for postoperative sedation in the intensive care unit. *Anaesthesia* 1999; 54:1136–42.
10. Bhana N, Goa KL, McClellan KJ. Dexmedetomidine. *Drugs* 2000;59(2): 263-70.
11. Taniguchi T, Kidani Y, Kanakura H, Takemoto Y et al. Effects of dexmedetomidine on mortality rate and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats. *Crit Care Med* 2004; 32: 1322-6

12. Taniguchi T, Kurita A, Kobayashi K, Yamamoto K et al. Dose- and time-related effects of dexmedetomidine on mortality and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats. *J Anesth* 2008; 22: 221-8
13. Venn RM, Bryant A, Hall GM, Grounds RM. Effects of dexmedetomidine on adrenocortical function and the cardiovascular, endocrine and inflammatory responses in post-operative patients needing sedation in the intensive care unit. *Br J Anaesth* 2001; 86: 650-6.
14. Hoffman WE, Kochs E, Werner C, Thomas C et al. Dexmedetomidine improves neurologic outcome from incomplete ischemia in the rat. reversal by the alpha 2-adrenergic antagonist atipamezole. *Anesthesiology* 1991; 75: 328-32.
15. Kumagai M, Horiguchi T, Nishikawa T, Masaki Y et al. Intravenous dexmedetomidine decreases lung permeability induced by intracranial hypertension in rats. *Anesth Analg* 2008; 107: 643-7.
16. Jolkkonen J, Puurunen K, Koistinaho J, Kauppinen R et al. Neuroprotection by the alpha2-adrenoceptor agonist, dexmedetomidine, in rat focal cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol* 1999; 372: 31-6.
17. Eser O, Fidan H, Sahin O, Cosar M et al. The influence of dexmedetomidine on ischemic rat hippocampus. *Brain Res* 2008; 1218: 250-6.
18. Yagmurdur H, Ozcan N, Dokumaci F, Kilinc K et al. Dexmedetomidine reduces the ischemia-reperfusion injury markers during upper extremity surgery with tourniquet. *J Hand Surg [Am]* 2008; 33: 941-7.
19. Yang CL, Tsai PS, Huang CJ. Effects of dexmedetomidine on regulating pulmonary inflammation in a rat model of ventilator-induced lung injury. *Acta Anaesthesiol Taiwan* 2008;46(4):151-59.
20. Kocoglu H, Ozturk H, Ozturk H, Yilmaz F. Effect of dexmedetomidine on ischemia-reperfusion injury in rat kidney: a histopathologic study. *Renal Failure* 2009;31:70–74
21. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000;190:255–66.

22. Farber NE, Pieper GM, Gross GJ. Regional differences in postischemic recovery in the stunned canine myocardium. *Am Heart J* 1987;114: 1086–95
In: Dorweiler B, Pruefer D, Andradi TB, Maksin AM et al. Ischemia-reperfusion injury: pathophysiology and clinical implications. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2007;33:600-12.
23. Olding M, Jeng JC. Ischemic tolerance of canine jejunal flaps. *Plast Reconstr Surg* 1994;94:167.
24. Maroko PR, Libby P, Ginks WR, Bloob CM et al. Coronary artery reperfusion. *J Clin Invest* 1972; 51:2710–6.
25. Dorweiler B, Pruefer D, Andradi TB, Maksin AM et al. Ischemia-reperfusion injury: pathophysiology and clinical implications *Eur J Trauma Emerg Surg* 2007; 33: 600-12.
26. Seal JB, Gewertz BL. Vascular dysfunction in ischemia-reperfusion injury. *Ann Vasc Surg* 2005; 19:572–84.
27. Girn HR, Ahilathirunayagam S, Mavor AI, Homer-Vanniasinkam S. Reperfusion syndrome: cellular mechanisms of microvascular dysfunction and potential therapeutic strategies. *Vasc Endovascular Surg* 2007; 41: 277-93
28. Pasupathy S, Homer-Vanniasinkam S. Ischaemic preconditioning protects against ischaemia-reperfusion injury: emerging concepts. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005; 29:106–15.
29. Duru S, Koca U, Öztekin S, Olguner Ç, Kar A et al. Antithrombin III pretreatment reduces neutrophil recruitment into the lung and skeletal muscle tissues in the rat model of bilateral lower limb and reperfusion: A pilot study. *Acta Anaesthesiol Scand* 2005; 49:1142-48.
30. Arumugam VT, Granger DN. Microvascular aspects of ischemia-reperfusion injury organ. *Microcirculation* 2006;13:181-92.
31. Becker LB. New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology. *Cardiovasc Res* 2004; 61:461–70.
32. Granger DN. Ischemia-reperfusion: mechanisms of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease. *Microcirculation* 1999;6:167–78.

33. Khalil AA, Aziz FA, Hall JC. Reperfusion injury. *Plast Reconstr Surg* 2006; 117: 1024-33
34. Parks DA. Oxygen radicals: mediators of gastrointestinal pathophysiology *Gut* 1989; 30:293-8.
35. Bulkley GB. Reactive oxygen metabolites and reperfusion injury: aberrant triggering of reticuloendothelial function *The Lancet* 1994; 344, 8927: 934-36
36. Toledo-Pereyra LH, Lopez-Neblina F, Toledo AH. Reactive oxygen species and molecular biology of ischemia/reperfusion. *Ann Transplant* 2004; 9: 81-3
37. Grune T, Reinheckel T, Davies KJ. Degradation of oxidized proteins in mammalian cells. *FASEB J* 1997; 11: 526-34.
38. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB et al. Ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* 2002;105:248–58.
39. Maxwell SR, Lip GY. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int J Cardiol* 1997; 58: 95–117
40. Girotti AW Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J Lipid Res* 1998 39(8):1529-42.
41. Gute DC, Ishida T, Yarimizu K, Korthuis RJ. Inflammatory responses to ischemia and reperfusion in skeletal muscle. *Mol Cell Biochem* 1998; 179: 169-87.
42. Weiss SJ: Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989; 320: 365–76 In: Gute DC, Ishida T, Yarimizu K, Korthuis RJ. Inflammatory responses to ischemia and reperfusion in skeletal muscle. *Mol Cell Biochem* 1998; 179: 169-87.
43. Entman ML, Youker K, Shoji T, Kukielka G et al. Neutrophil induced oxidative injury of cardiac myocytes. A compartmented system requiring CD11b/CD18-ICAM-1 adherence. *J Clin Invest* 1992;90:1335-45.
44. Harlan JM. Leukocyte-endothelial cell interactions. *Blood* 1985;65: 513–25.
45. Paparella D, Yau TM, Young E. Cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. an update. *Eur J Cardiothoracic Surgery* 2002;21: 232–44.

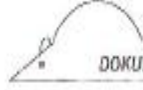
46. Diamond MS, Springer TA. A subpopulation of Mac-1 (CD11b/CD18) molecules mediates neutrophil adhesion to ICAM-1 and fibrinogen. *J Cell Biol* 1993; 120:545–56.
47. Korthuis RJ, Gute DC. Adhesion molecule expression in postischemic microvascular dysfunction: activity of a micronized purified flavonoid fraction. *J Vasc Res* 1999; 36 Suppl 1: 15-23.
48. Klausner JM, Anner H, Paterson IS, Kobzik L et al. Lower torso ischemia-induced lung injury is leukocyte dependent. *Ann Surg* 1988; 208: 761-7.
49. Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997; 14:195–203.
50. Klausner JM, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D et al. Limb ischemia-induced increase in permeability is mediated by leukocytes and leukotrienes. *Ann Surg* 1988; 208: 755-60.
51. Staub NC, Schultz EL, Albertine KH. Leucocytes and pulmonary microvascular injury. *Ann N Y Acad Sci* 1982; 384: 332-43.
52. Kumar V, Abbas AK, Nelson F -Robbins and Coltran *Pathologic Basis Of Disease* 7th ed - Elsevier, 2005: 783-84.
53. Fahey TJ, 3rd, Yoshioka T, Shires GT, Fantini GA. The role of tumor necrosis factor and nitric oxide in the acute cardiovascular response to endotoxin. *Ann Surg* 1996; 223: 63-9.
54. Roumen RM, Hendriks T, van der Ven-Jonge KJ, Nieuwenhuijzen GA et al. Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, and severe blunt trauma. Relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure. *Ann. Surg.* 1993;218:769–76.
55. Tzoulaki I, Murray GD, Lee AJ, Rumley A et al. C-reactive protein, interleukin-6 and soluble adhesion molecules as predictors of progressive peripheral atherosclerosis in the general population: Edinburgh Artery Study. *Circulation* 2005;112:976-83.
56. Wang H, Czura CJ, Tracey KJ. Tumor necrosis factor In: Thomson AW, Lotze MT. *The Cytokine Handbook*. Vol 2. 4th ed. London, UK: Elsevier Science Academic Press; 2003:837-60.

57. Kim HJ, Tsoy I, Park JM, Chung JI et al. Anthocyanins from soybean seed coat inhibit the expression of TNF-induced genes associated with ischemia/reperfusion in endothelial cell by NF-B-dependent pathway and reduce rat myocardial damages incurred by ischemia and reperfusion in vivo. *FEBS Lett* 2006;580:1391–7.
58. Gaines GC, Welborn MB 3rd, Moldawer LL, Huber TS et al. Attenuation of skeletal muscle ischemia/reperfusion injury by inhibition of tumor necrosis factor. *J Vasc Surg* 1999; 29: 370—6.
59. Tassiopoulos AP, Carlin RE, Gao Y, et al. Role of nitric oxide and tumor necrosis factor on lung injury caused by ischemia/reperfusion of the lower extremities. *J Vasc Surg*1997;26:647-56.
60. Menger MD, Vollmar B. Pathomechanisms of ischemia-reperfusion Injury as the basis for novel preventive strategies: Is it time for the introduction of pleiotropic compounds? *Transplantation Proceedings* 2007;39:485-88.
61. Kaçmaz A, Yılmaz E, Şehirli AÖ, Tilkı M et al. Protective effect of melatonin against ischemia/reperfusion-induced oxidative remote organ injury in the rat. *Surgery Today* 2005;35:744-50.
62. Ozyurt B, Iraz M, Koca K, Ozyurt H et al. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on skeletal muscle ischemia-reperfusion injury in rats. *Moll Cell Biochem* 2006;292:197-203.
63. Akgun S, Tekeli A, Isbir SC, Civelek A et al. FK506 to prevent lung injury after hindlimb ischemia and reperfusion in a rat model: an electron microscopic study. *Surg Today* 2004;34:678-84.
64. Turan R, Yagmurdur H, Kavutcu M, Dikmen B. Propofol and tourniquet induced ischaemia reperfusion injury in lower extremity operations. *Eur J Anaesthesiol* 2007;24:185-89.
65. Engelhard K, Werner C, Eberspacher E, Bachl M et al. The effect of the alpha₂-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.

66. Van M, Olguner Ç, Koca U, Şişman AR et al. Ischaemic preconditioning attenuates haemodynamic response and lipid peroxidation in lower-extremity surgery with unilateral pneumatic tourniquet application: a clinical pilot study *Adv Ther* 2008;25:355-66.
67. Harkin DW, Barros D'Sa AA, McCallion K, Hoper M et al. Ischemic preconditioning before lower limb ischemia-reperfusion protects against acute lung injury. *J Vasc Surg* 2002; 35: 1264-73.
68. Gertler R, Brown HC, Mitchell DH, Silvius EN. Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *Proc BUMC* 2001; 14: 13-21
69. Hunter JC, Fontana DJ, Hedley LR, Jasper JR et al. Assessment of the role of alpha₂-adrenoceptor subtypes in the antinociceptive, sedative and hypothermic action of dexmedetomidine in transgenic mice. *Br J Pharmacol* 1997;122:1339-44.
70. Elvan EG, Oc B, Uzun S, Karabulut E et al. Dexmedetomidine and postoperative shivering in patients undergoing elective abdominal hysterectomy. *Eur J Anaesthesiol* 2008; 25: 357-64
71. Mol Y. Rat alt ekstremite iskemi reperfüzyon modelinde tenoksikamın antioksidan etkinliğinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, DEÜTF;2008.
72. Quaresma AB, d'Acampora AJ, Tramonte R, de Farias DC. Histological study of the liver and biochemistry of the blood of Wistar rats following ligation of right hepatic duct. *Acta Cirúrgica Brasileira* 2007;22 (1):68-78.
73. Rotta AT, Viana MEG, Wiryawan B, Guilherme A, Sargentelli GA. Combining lung-protective strategies in experimental acute lung injury: the impact of high-frequency partial liquid ventilation. *Pediatr Crit Care Med* 2006;7(6):562-70.
74. Padberg FT Jr, Franco CD, Kerr JC, Lynch TG, et al. Acute ischemia-reperfusion injury in the canine hindlimb. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 1989; 30: 925-31.
75. Colletti LM, Remick DG, Burtch GD, Kunkel SL et al. Role of tumor necrosis factor-alpha in the pathophysiologic alterations after hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat. *J Clin Invest* 1990; 85: 1936-43.

76. Skjeldal S, Torvik A, Groggaard B, Nordsletten L et al. Histological studies on postischemic rat skeletal muscles. with emphasis on the time of leukocyte invasion. *Eur Surg Res* 1993; 25: 348-57.
77. Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovasc Surg* 2002; 10: 620-30.
78. Petrasek PF, Homer-Vanniasinkam S, Walker PM: Determinants of ischemic injury to skeletal muscle. *J Vasc Surg* 1994; 19: 623-31.
79. Yao YM, Sheng ZY, Yu Y, Tian HM et al. The potential etiologic role of tumor necrosis factor in mediating multiple organ dysfunction in rats following intestinal ischemia-reperfusion injury. *Resuscitation* 1995; 29: 157-68.
80. Koroglu A, Demirbilek S, Teksan H, Sagir O et al. Sedative, haemodynamic and respiratory effects of dexmedetomidine in children undergoing magnetic resonance imaging examination: preliminary results. *Br J Anaesth* 2005; 94: 821-4.
81. Aho MS, Erkola OA, Scheinin H, Lehtinen AM et al. Effect of intravenously administered dexmedetomidine on pain after laparoscopic tubal ligation. *Anesth Analg* 1991; 73: 112-8.
82. Arain SR, Ruehlow RM, Uhrich TD, Ebert TJ. The efficacy of dexmedetomidine versus morphine for postoperative analgesia after major inpatient surgery. *Anesth Analg* 2004; 98:153-8.
83. Engelhard K, Werner C, Kaspar S, Mollenberg O et al. Effect of the alpha2-agonist dexmedetomidine on cerebral neurotransmitter concentrations during cerebral ischemia in rats. *Anesthesiology* 2002; 96: 450-7.
84. Karadas B, Kaya T, Gulturk S, Parlak A et al. Additive interaction of intraperitoneal dexmedetomidine and topical nimesulide, celecoxib, and DFU for antinociception. *Eur J Pharmacol* 2007; 556: 62-8.
85. Welbourn R, Goldman G, O'Riordain M, Lindsay TF et al. Role for tumor necrosis factor as mediator of lung injury following lower torso ischemia. *J Appl Physiol* 1991; 70: 2645-9.

EK



DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANI ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

35340. Inciraltı, İzmir-232 4122264
<http://deu.edu.tr/tip/fakültesi/etik/deneyetik/>


Sayı : 134
Tarih : 24/11/2008
Toplantı No : 17/20/2008
Toplantı Tarihi : 21/11/2008

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

105/2008 Protokol No'lu; Anesteziyoloji Ana Bilim Dalı Başkanlığınca yürütülecek olan Dr.Ö.Burak KÜÇÜKEBE'nin sorumlu olduğu "Sıçan alt ekstremite iskemi reperfüzyon modelinde deksmedetominin akut akciğer hasarı üzerine etkileri" isimli projede;

- İlaç dozları ile ilgili literatür eklenmesi gerekmektedir.
- İlacın verilme zamanının seçilme nedeninin belirtilmesinden sonra projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.


Prof. Dr. Mustafa OLCUNER
Deney Hayvanı Araştırmaları
Etik Kurulu Başkanı