

**T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**DEKSMEDOTİMİDİNİN SIÇAN BÖBREĞİNDE İSKEMİ
REPERFÜZYON HASARI SONRASI TRPM2, TRPA1
KANALLARI VE OKSİDAN, ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Abdulkadir UZUNBOY**

TEZ DANIŞMANI

**ELAZIĞ
2022**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Metin Kaya GÜRGÖZE

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Azize BEŞTAŞ

Anesteziyoloji Ve Reanimasyon Anabilim Dalı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Eşef BOLAT _____ **Danışman**

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince benden desteklerini esirgemeyen, bilgisinden ve tecrübesinden her zaman yararlandığım, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Azize BEŞTAŞ'a, tezimin hazırlanması aşamasında destekleriyle bana her zaman yardımcı olan ve asistanlık eğitimime büyük katkı sağlayan, tez danışmanım, değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Eşef BOLAT'a, asistanlık eğitimime katkılarından dolayı Anesteziyoloji ve Reanimasyon Ana Bilim Dalı Öğretim Üyeleri olan değerli hocalarım Prof. Dr. İsmail DEMİREL'e, Doç. Dr. Sibel ÖZCAN'a, Doç. Dr. Aysun Yıldız ALTUN'a, Dr. Öğr. Üyesi Ahmet AKSU'ya, tezimin her aşamasında desteğini gördüğüm, deneyiminden ve bilgisinden faydalandığım Fırat Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı'ndan Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na, ve Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim dalında birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca devamlı arkamda olduğunu bildiğim sevgili eşime, beni kendilerinden çok düşünen, şefkat ve dualarıyla her zaman yanımda olan anneme ve babama, hayatıma anlam katan kızlarım Bade ve Ela'ya teşekkür ederim.

ÖZET

Böbrek iskemi ve reperfüzyon(İ/R) hasarı renal arterlerde tromboz sonrası trombolitik tedavi, organ nakli, total sirkülatuar arrest ve kardiyopulmoner bypass gibi çeşitli tıbbi ve cerrahi girişimler sırasında görülen potansiyel olarak ciddi bir sorundur. İ/R hasarında temel patofizyoloji, iskemik dokuların reperfüzyonu sonrası gelişen mikrovasküler disfonksiyona bağlı oksidatif bir süreçtir. Bu durum sık görülmesi ve yüksek mortalite oranına sahip olması açısından klinik öneme sahiptir.

Bu çalışmada böbrek İ/R modeli oluşturulmuş ratlarda dexmedetomidin(DEX) kullanılarak oksidatif stresle aktive edilen TRPM2, TRPA1 kanalların ekspresyonu, oksidan, antioksidan sistem üzerine etkisini ve TUNEL yöntem kullanılarak hesaplanan apoptotik indeksi üzerinden etkileri incelemek amaçlanmıştır.

Çalışmada, 35 adet 8-10 haftalık Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Denekler her grupta 7 hayvan olacak biçimde 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna deney süresince bir uygulama yapılmadı. Sham grubunda genel anestezi eşliğinde batın açıldı, sağ böbrek alınarak sol böbrek pedikülü açığa çıkarıldı; ancak renal klemp uygulanmadı. Deksmetomidin alan grup(DEX), Grup 2'deki ile aynı cerrahi prosedürle deksmedetomidin (100 µg/kg) genel anestezi başlangıç zamanında uygulandı. İ/R gruplarında ise sıçanlar, yukarıda açıklanan cerrahi prosedürlere tabi tutularak sol böbrek pedikülüne renal klemp uygulanarak 30 dakika süreyle sol böbrek iskemisine, ardından 45 dakika süreyle reperfüzyona tabi tutuldu. İ/R4 grubuna deksmedetomidin verilmeyip İ/R5 grubuna reperfüzyon başlangıcında deksmedetomidin hidroklorür verildi.

Deney sonunda sıçanlar anestezi altında serum numuneleri ve böbrek dokuları alınarak dekapite edildi. Sıçanlardan alınan hem serum hemde böbrek dokusundan TAS ve TOS değerleri, TRPM2, TRPA1 ekspresyonu çalışıldı. Alınan böbrek dokusundan immünohistokimyasal yöntemle TRPM2, TRPA1 ekspresyonu ve TUNEL yöntem çalışıldı.

İ/R uygulanan grupta uygulanmayan gruplara göre alınan tüm serum ve dokularda TRPM2, TRPA1 ekspresyonunda ve TOS değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenirken, TAS değerinde ise azalma gözlemlendi. İ/R5 grubunda İ/R4 grubuna göre alınan tüm serum ve dokularda TRPM2, TRPA1 ekspresyonunda ve TOS değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenirken, TAS değerinde ise

artış gözlemlendi. İ/R5 grubu ile iskemi reperfüzyon uygulanmayan gruplar arasında çalışılan tüm değerlerde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmedi.

Anahtar kelimeler: İskemi/reperfüzyon, Dexmedetomidin, Böbrek, TRPM2, TRPA1,



ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF DEXMEDOTYIMIDINE ON TRPM2, TRPA1 CHANNELS AND OXIDANT, ANTIOXIDANT SYSTEM AFTER ISCHEMIA REPERFUSION INJURY IN RAT KIDNEY

Renal ischemia and reperfusion injury is a potentially serious problem seen during various medical and surgical interventions such as thrombolytic therapy after thrombosis of the renal arteries, organ transplantation, total circulatory arrest and cardiopulmonary bypass. The basic pathophysiology of I/R injury is an oxidative process due to microvascular dysfunction after reperfusion of ischemic tissues. This condition is clinically important because it is common and has a high mortality rate.

In this study, it was aimed to examine the effects of using dexmedetomidine (DEX), TRPM2, TRPA1 channels on the expression activated oxidative stress by oxidant and antioxidant system and the effects on the apoptotic index calculated using the TUNEL method in rats with a kidney I/R model.

In the study, 35 8-10 week old male Wistar albino rats were used. Experimental animals were divided into 5 groups with 7 animals in each group. No application was made to the control group during the experiment. In the sham group, the abdomen was opened under general anesthesia, the right kidney was removed and the left kidney pedicle was exposed; however, renal clamp was not applied. Dexmedetomidine-receiving group (DEX) was administered dexmedetomidine (100 µg/kg) at the onset of general anesthesia with the same surgical procedure as in Group 2. In the I/R groups, the rats were subjected to the surgical procedures described above and left kidney ischemia for 30 minutes followed by reperfusion for 45 minutes by applying a renal clamp to the left kidney peduncle. Dexmedetomidine was not given to the I/R4 group, but dexmedetomidine hydrochloride was given to the I/R5 group at the beginning of reperfusion.

At the end of the experiment, the rats were decapitated by taking serum samples and kidney tissues under anesthesia. TAS and TOS values, TRPM2, TRPA1 expression were studied from both serum and kidney tissue taken from rats. TRPM2, TRPA1 expression and TUNEL method were studied by immunohistochemical method from the taken kidney tissue.

While a statistically significant increase was observed in TRPM2, TRPA1 expression and TOS values in all serum and tissues taken in the I/R administered group (I/R4) compared to the non-administered groups, a decrease was observed in the TAS value. While a statistically significant decrease was observed in TRPM2, TRPA1 expression and TOS values in all serum and tissues taken in the I/R5 group compared to the I/R4 group, an increase was observed in the TAS value. There was no statistically significant difference in all values studied between the I/R5 group and the groups that did not undergo ischemia reperfusion.

Keywords : Ischemia/reperfusion, Dexmedothymidine, Kidney, TRPM2, TRPA1,



İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Böbrekler	3
1.1.1. Böbreğin Anatomisi	3
1.1.2. Böbreğin Fizyolojisi	4
1.1.2.1. Tübüler Fonksiyonlar	6
1.1.2.2. Sıvı, elektrolit ve asit-baz dengesi	8
1.1.3. Böbreğin Patolojisi	13
1.1.3.1 Akut Böbrek Yetmezliği	14
1.1.3.1.1. Prerenal Akut Bobrek Hasarı	14
1.1.3.1.2. İntrarenal Akut Bobrek Hasarı	15
1.1.3.1.3. Postrenal Akut Hasar	16
1.1.3.1.4. Akut Tubuler Nekroz	16
1.2. Hücre İskeleti ve İntraselüler Yapısal Değişiklikler	17
1.2.1. Apoptozis ve Nekroz	18
1.2.2. Parankimal İnflamasyon	19
1.2.3. İyileşme ve Yenilenme	19
1.2.4. Septik Şokta ABY	20
1.2.5. Toksik Renal Hasar	21
1.3. İskemi/Reperfüzyon	22
1.3.1. İskemi	22
1.3.2. Reperfüzyon	24
1.3.3. İskemi/Reperfüzyon Hasarı	26
1.3.3.1. Böbrek'te İskemi-Reperfüzyonun Hücresel ve Dokusal Bazda Etkileri	27

1.3.3.2. İskemi Reperfüzyonun Organ Seviyesinde Etkileri	28
1.3.3.3. Hasarın Tespitinde Kullanılan Bazı Yöntemler	30
1.4. Oksidan Sistem	32
1.5. Antioksidan Sistem	33
1.6. Hücre Zarının Yapısı ve Hücre Zarı Kanalları	35
1.6.1. Transient Reseptör Potansiyel Kanalları	35
1.6.1.1 Transient Reseptör Potensiyel Melastatin-2 (TRPM2)	36
1.6.1.2. Transient Reseptör Potansiyel Ankirin-1 (TRPA1)	36
1.7. Dexmedetomidin	37
2. GEREÇ ve YÖNTEM	40
2.1 Deney Hayvanları Ve Beslenmeleri	40
2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	41
2.3. Doku Örneklerinin Alınması	42
2.4. Biyokimyasal Çalışma	42
2.5. İmmünohistokimyasal Çalışma	42
2.6. TUNEL Çalışması	43
2.7. İstatistiksel Analizler	44
3. BULGULAR	45
3.1. Biyokimyasal Bulgular	45
3.1.1. Serum Total Oksidan Status (TOS) Düzeyleri	45
3.1.2. Serum Total Antioksidan Status (TAS) Düzeyleri	45
3.1.3. Serum TRPM2 Düzeyleri	46
3.1.4. Serum TRPA1 Düzeyleri	46
3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	47
3.2.1. TRPM2 İmmünreaktivitesi	47
3.2.2 TRPA1 İmmünreaktivitesi	50
3.3. TUNEL Bulgular	53
4. TARTIŞMA	57
5. KAYNAKLAR	64
6. ÖZGEÇMİŞ	75

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Deney Hayvanlarına Verilen Sıçan Yeminin Terkibi	40
Tablo 2. Serum TOS ve TAS Düzeyleri	45
Tablo 3. Serum TRPM2 ve TRPA1 Düzeyleri	46
Tablo 4. TRPM2 ve TRPA1 İmmünreaktivitesi histoskoru	50
Tablo 5. Apoptotik İndeks (%)	54



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Böbreğin anatomik yapısı ve longitudinal kesimi	4
Şekil 2.	Nefronun anatomik yapısı	13
Şekil 3.	İskeminin sonuçları şematize edilmiş hali	24
Şekil 4.	İskemi ve Reperfüzyonun sonuçları şematize edilmiş hali	26
Şekil 5.	Reaktif Oksijen Türlerinin Kaynakları	33
Şekil 6.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 İmmünreaktivitesi	47
Şekil 7.	Sham grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 İmmünreaktivitesi	48
Şekil 8.	Dexmedotimidin (DEX) grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 İmmünreaktivitesi	48
Şekil 9.	İskemi/reperfüzyon (İ/R4) grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 İmmünreaktivitesi	49
Şekil 10.	İ/R+Dexmedotimidin(İ/R5) grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	49
Şekil 11.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TRPA1 immünreaktivitesi	51
Şekil 12.	ham grubuna ait böbrek dokusunda TRPA1 immünreaktivitesi	51
Şekil 13.	Dexmedotimidin(DEX) grubuna ait böbrek dokusunda TRPA1 immünreaktivitesi	52
Şekil 14.	İskemi/reperfüzyon (İ/R4) grubuna ait böbrek dokusunda TRPA1 immünreaktivitesi	52
Şekil 15.	İ/R+Dexmedotimidin(İ/R5) grubuna ait böbrek dokusunda TRPA1 immünreaktivitesi	53
Şekil 16.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler	54
Şekil 17.	Sham grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler	55
Şekil 18.	Dexmedotimidin(DEX) grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler	55
Şekil 19.	İskemi/reperfüzyon (İ/R4) grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler	56
Şekil 20.	İ/R+Dexmedotimidin(İ/R5) grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler	56

KISALTMALAR LİSTESİ

ABY	: Akut Böbrek Yetmezliği
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
ADH	: Antidiüretik Hormon
ABH	: Akut Böbrek Hasarı
ATN	: Akut Tübüler Nekroz
ATP	: Adenozin Trifosfat
AMP	: Adenozin Monofosfat
BUN	: Blood Urea Nitrogen
CR	: Creatinin
cADPR	: Siklik Adenosin Difosfat Riboz
DEX	: Dexmedetimidin
FÜBAP	: Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
FeNa	: Fraksiyone Sodyum Ekskresyonu
GFH	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
İ/R	: İskemi/Reperfüzyon
KDH	: Ksantin Dehidrojenaz
KO	: Ksantin Oksidaz
mPTP	: Mitokondriyal Geçiş Porlar
MDA	: Malondialdehid
NO	: Nitrik Oksit
NSAİİ	: Nonsteroid Antienflamtuvar İlaç
PAR	: Proteaz Aktif Reseptörleri
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PKC	: Protein Kinaz C
PTH	: Parathormon
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
ROT	: Radikal Oksijen türevleri
TLR2	: Toll Like Reseptör 2
TRPA	: Transient Reseptör Potansiyel Ankirin
TRPA1	: Transient Reseptör Potansiyel Ankirin 1
TRPM	: Transient Reseptör Potansiyel Melastatin
TRPM2	: Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2
Y	: Yoğun Bakım Ünitesi

1. GİRİŞ

Böbrek iskemisi; dokuya enerji ve besin sağlayan yolların çeşitli nedenlerle (böbrek transplantasyonu, kısmi nefrektomi, kardiyopulmoner bypass, septik şok ve hidronefroze) kesilmesine veya ortadan kaldırılmasına denir. İskemi sonrası dokuya enerji substratı ve oksijen sunum kısıtlılığına bağlı hipoksik doku hasarı ortaya çıkar. İskeminin uzun sürmesi sonucunda hücrelerin bütünlüğü kaybolur hatta hücreölüm meydana gelir. İskemiden sonra meydana gelen akut böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon hızında azalma, tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışıyla karakterizedir. Reperfüzyon ise dokuya yeniden enerji ve besin akışının başlamasıdır. İskemik bir dokuda enerji ve besin akışının yeniden başlaması durumunda, özellikle dokuya gelip yerleşen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından salınan mitokondriyal kaynaklı radikal oksijen türevleri (ROT) dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar. Bu olaya reperfüzyona bağlı doku hasarı denir (1).

İskemi/reperfüzyonda (İ/R) meydana gelen hasardan öncelikli sorumlu olan reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumu genel olarak ; ksantin oksidaz aracılı, mitokondriyal elektron transport zinciri (ETZ), nitrik oksit sentaz ve fagositik hücre aracılı olmak üzere 4 ana biyokimyasal mekanizma ile açıklanmaktadır(2,3).

Meydana gelen doku hasarının boyutu, iskemik süre dışında doku ve organların hücreölüm ve biyokimyasal metabolizma açısından spesifik farklılıkları ile de yakından ilişkilidir. Reaktif oksijen türlerinin olası zararlarına karşılık birçok hücre koruyucu enzimler ile karşı koyulur ve antioksidan maddeler ile ROT hasarı sınırlandırılmaya çalışılır. Vücuttaki hücreölüm antioksidan enzimler, antioksidan maddeler ve serbest radikallerin birbirleri arasındaki ilişki bir denge oluşturmaktadır (4). Hücre içinde oksijen metabolizmasının olduğu her yerde, antioksidanlar, oksijen radikallerini azaltmak için hızlı ve türe yönelik (enzimatik) olarak çalışırlar. Oksijen türlerinin uzaklaştırılmasında öncelikle etkili olanlar enzimatik antioksidanlardır. Bunlar superoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimlerdir (4).

Deksmedetomidin, güçlü ve selektif bir alfa-2 adrenoseptör agonistidir. Yoğun bakımda yatan hastalara sedasyon amaçlı kullanımı 1999 yılında ABD Gıda ve İlaç İdaresi tarafından onaylandı. O günden beri, rejyonel ve genel anestezi de kullanım endikasyonlarını bildiren artan sayıda araştırma makalesi ortaya çıktı.

Deksmedetomidinin tavşanlarda fokal iskemiye karşı korumada, (5) sıçanlarda kardiyak İ/R hasarında , (6) tamamlanmamış ön beyin iskemisinde etkili olduğu, (7) renal İ/R hasarı üzerindeki histopatolojik olumulu etkileri (8) bildirilmiştir . Artan klinik kullanımına rağmen, deksmedetomidinin renal İ/R hasarı üzerindeki etkisinin spesifik yöntemler kullanılarak henüz araştırılmamıştır.

TRPM2, transient reseptör potansiyeli melastatin alt ailesinin ikinci üyesidir. Hematopoietik, endotelyal ve böbrek hücreleri dahil olmak üzere birçok hücre tipinde eksprese edilir. TRPM2'nin çeşitli in vitro ortamlarda hücre proliferasyonunda ve oksidanla indüklenen hücre ölümünde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Bir çalışmada, hedeflenen TRPM2 delesyonuna sahip farelerin iskemik akut böbrek hasarından korunduğunu ve TRPM2'nin farmakolojik inhibisyonu böbrek iskemik hasarını azalttığı bildirilmiştir (9).

Transient reseptör potansiyeli ankirin 1 (TRPA1), kalsiyum geçirgenliğini içeren, ROT gibi toksik veya inflamatuvar mediyatörler tarafından aktive edilebilen seçici olmayan bir transmembran katyon kanalıdır. Son çalışmalar, TRPA1'in renal tübüler hücreler dahil olmak üzere çeşitli nöron dışı hücrelerde eksprese edildiğini göstermiştir (10). Bununla birlikte, iki deneysel hayvan çalışması, TRPA1'in sepsis veya anjiyotensin-II'nin neden olduğu böbrek hasarına karşı koruduğunu ileri sürülmüş (11, 12).

Tüm organ ameliyatlarında olduğu gibi renal cerrahi girişimlerde de iskemi/reperfüzyon (İ/R) kaçınılmazdır. Son zamanlarda yapılan çeşitli deneysel İ/R modellerinde, birçok anestezi maddelerinin yanı sıra özellikle dexmedetomidinin İ/R hasarında koruyucu veya önleyici etkileri gösterilmeye çalışılmıştır. Ancak; bu hasarın engellenmesinde, hücresel boyutta daha spesifik parametreler üzerinde çalışılmamıştır.

Bu çalışmada, renal İ/R modeli oluşturulmuş ratlarda dexmedetomidin kullanarak moleküler düzeyde hem renal dokuda hemde serumda TRPM2 ve TRPA1 katyon kanallarının ekspresyonunu ve oksidan, antioksidan sistem üzerinden koruyucu etkilerini incelemek amaçlandı.

1.1. Böbrekler

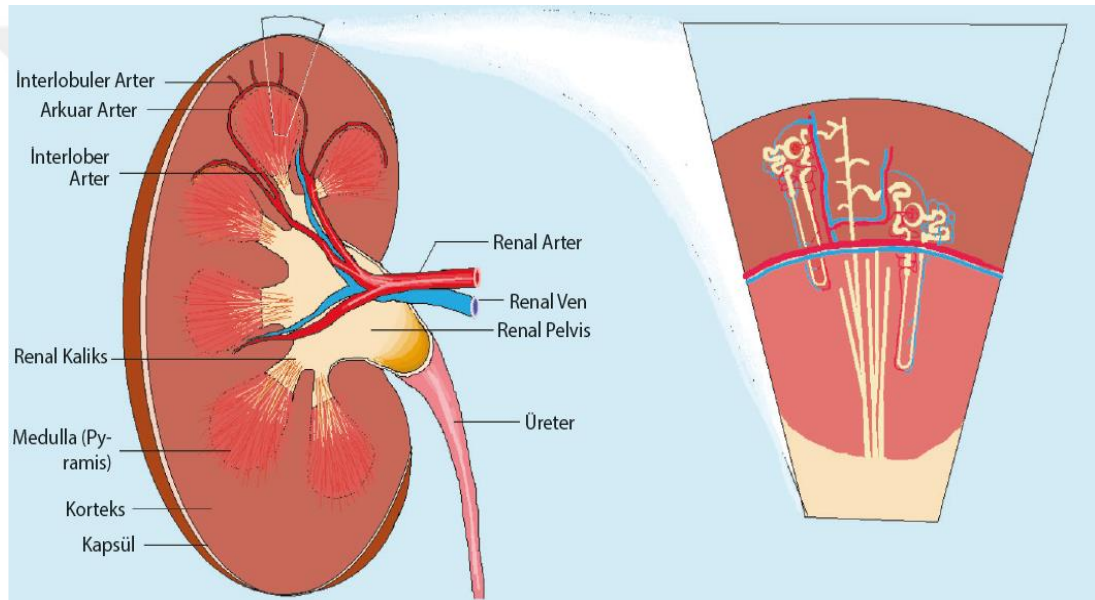
1.1.1.Böbreğin Anatomisi

Böbreğin makroskopik anatomisinde böbrekler karın arka duvarında her iki yanda periton boşluğu dışında bulunurlar. Sağ böbrek, üstündeki karaciğer nedeniyle sola göre biraz daha aşağıdadır. Organın medial yüzü paraspinal kaslar tarafından desteklenir. Üst kutuplarının arka kesimleri alt kaburgalarla komşudur. Kubbesindeki adrenal bezle birlikte ince bir bağ dokusu perirenal veya Gerota fasiyası tarafından sarmalanmıştır. Bu fasiya bir bariyer gibidir. Gerota fasiyasının iç ve dış yüzü erişkinlerde daha çok, çocuklarda daha az miktarda yağ dokusuyla doludur. Küçük çocuklarda böbreklerin boyutu vücuda göre göreceli olarak büyüktür. Yetişkin insanda böbreğin ağırlığı yaklaşık 150 gramdır ve ortalama bir yumruk büyüklüğündedir.

Böbreklerin komşulukları değişiklik gösterir. Sağ böbrek karaciğerin arka bölgesine uzanır. Medial kısmındaki hiler yapıları duodenum örter. Sağ böbreğin alt kutbunu kolonun hepatik fleksurası çaprazlar. Solda böbrek hilusu ve üst 2/3 bölümü retroperitoneal pankreas kuyruğu ve dalak damarıyla komşudur. Yukarıda mide arka duvarıyla komşuluk yapar. Pankreas kuyruğunun altında medialde büyükçe bir peritoneal kese içinde jejunum ile komşudur .

Böbreğin mikroskopik anatomisine bakacak olursak; bütün yüzeyi kalın fibröz bir kapsülle örtülüdür. Kapsülün hemen altında yer alan böbrek parankiminin en dışına korteks, korteksle toplayıcı boşluklar arasında kalan kesimine de medulla denir. Korteks bölgesinde glomerullar, proksimal ve distal kıvrıntılı tübüller ve toplayıcı kanallar bulunur. Böbrek parankiminin daha derin bölgeleri medulladır. Medullanın kortekse yakın kesimlerinde de Henle kıvrımı, vaza rekta ve toplayıcı kanalların terminal uçları bulunur. Medullada dikkati çeken en önemli yapılar, geniş tabanlı kortikomedullar birleşim hattında, sivri ucu da renal pelvise bakan renal piramidlerdir. Piramidin pelvise bakan sivri ucuna papilla denir. Üreterin hilusta genişleyerek oluşturduğu huni biçimli yapıya pelvis denir. Pelvisin en dışında majör kaliksler ve onların bölmeleri olan minör kaliksler yer alır. Papillalar minör kalikslere açılırlar. Renal arter, ven, lenfatikler, sinirler ve üreterin böbreğe giriş çıkış yaptığı mediale bakan yüzüne hilus denir. Hiler yapılar; en önde arter, arada ven ve en arkada pelvis olacak şekilde sıralanmışlardır (Şekil 1).

Böbrek parankimine giren renal arter dallarına interlober arter adı verilir. Interlober arterler medulla-korteks sınırında yay çizen arkuat arterlere dönüşür (Şekil 2). Arkuat arterlerden kortekse dik olarak ayrılan interlobüler arterler glomerüler kapiller yumağı oluşturan afferent arter dallarını verir. Afferent arterler glomerüler kapiller yumağı oluşturduktan sonra efferent arter olarak glomerülü terk eder ve tübüler sistem etrafında medullanın derinliklerine inen düz kapillerleri, vaza rektaları oluştururlar (Şekil 2). Vaza rektalar ise medullada bir U çizerek tekrar renal kortekse döner interlobüler ven, arkuat ven, interlober ven ve renal ven olarak böbreği terk ederler. (13)



Şekil 1. Böbreğin anatomik yapısı ve longitudinal kesimi (13).

1.1.2. Böbreğin Fizyolojisi

İnsanların çoğu böbreklerin fonksiyonunun sadece boşaltım sisteminin bir parçası olduğunu bilmektedir. Böbreklerin vücudumuz için önemli bir görevi de vücut sıvılarının volüm ve içeriklerini kontrol etmektir. Yani aslında böbreklerin bu düzenleyici görevi hücrelerin yaşamını idame ettirmesi için uygun bir çevre ortamı sağlamaktadır. Böbreklerimiz ayrıca; yabancı maddelerin ve metabolik atıkların uzaklaştırılması, su ve elektrolit dengesinin sağlanması, vücut sıvılarının ozmolalitesinin ve elektrolit konsantrasyonunun düzenlenmesi, arteriyel kan basıncının

regülasyonu, asit baz dengesinin sağlanması, bazı hormonların salgılanması ve metabolize edilip atılması, glikoneojenez gibi bir çok görevi yürütmektedir.

Böbreğin işlevsel her birimine nefron denir (Şekil-2). Gelişimsel evresini tamamlamış bir böbrekte yeni nefron üretilmez. Bu nedenle böbrek hastalıkları veya travma nedeniyle kaybedilen nefronların rejenerasyonu mümkün değildir. Yaşlanma ile 40 yaşından sonra her 10 yıl için %10 nefron kaybedilir ama geride kalan nefronlar kendini bu duruma adapte edebilir. Her böbrek yaklaşık 800 yüz bin ile 1 milyon arası nefron içermektedir. Böbrekte üç tip nefron vardır: Superfisiyal, midkortikal ve jukstaglomeruler nefronlar. Her bir nefron 5 bölümden oluşmaktadır (13,14)

1-Glomerül: Bowman kapsülü olarak bilinen renal tübülün genişlemiş son bölümü tarafından çevrelenmiş kapiller yumaklardır. Glomerüler kanı taşıyan, afferent arteriollerdir. Efferent arterioller, kanın atık maddelerini içerirler ve efferent arteriollerin dalları peritübüler kapiller olarak dallanır, bunlar da tübüleri beslerler.

2-Proksimal tübül: Kortekste lokalizedir.

3-Henle kıvrımı: Kortikomedüller birleşim yerinde lokalizedir.

4-Distal tübül: Kortekstedir

5-Toplayıcı tübül: İki veya daha fazla distal tübülden oluşmuştur. Korteks ve medülladan geçerek idrarı drene ederler.

Böbrek fizyolojisinde 3 esas fonksiyon mevcut. Bunlar; glomerüler filtrasyon, tübüler geri emilim ve tübüler sekresyondur (14).

Glomerüler: Glomerül afferent arteriolla gelen olan kanın filtrasyonunu sağlar. Hücreler ve belli bir boyutun üzerindeki moleküller hariç her türlü madde nefronun sonraki bölümlerine doğru ilerler. Bazı durumlar filtrasyonu kolaylaştırır. Bunların birisi, iki arteriöl arasında oluşan kapillerlerindeki yüksek basınçtır. Diğer bir faktör yarı geçirgen glomerüler membrandır. Bu membranın eşik değeri yaklaşık olarak 66000 daltondur (Albuminin molekül büyüklüğüyle aynı). Bu nedenle su, elektrolitler ve glukoz, üre, kreatinin gibi küçük moleküller serbestçe geçerler. Ancak albumin, bazı plazma proteinleri, selüler elementler, lipid, bilirubin gibi proteine bağlı moleküller geçemezler. Bir diğer faktör bazal membranın negatif şarj olmuş olmasıdır. Böylece, örneğin protein gibi negatif yüklü moleküller filtrata geçemezler. Böbreklere dakikada 1200-15000 ml kan akımı gelir ki bu miktar total kardiyak outputun yaklaşık %25'idir. Glomerüller normal yetişkin bir bireyde ise 125-130 ml/dk veya günde 180

litre filtrat oluştururlar. Bir dakikada filtre edilen kan hacmi Glomerüler Filtrasyon Hızı (GFH) olarak bilinir (14) .

1.1.2.1. Tübüler Fonksiyonlar

Proksimal Tübül: Proksimal túbül, hücreden arınmış ve özellikle protein-kan filtratının ulaştığı nefronun diğeri bir bölümüdür. Bu süzüntü hem belli bir konsantrasyonun üzerindeki vücut için zehirli olan artık ürünleri hem de vücut için gerekli maddeleri içerir. Proksimal túbülün bir fonksiyonu da bu değerli maddelerin her birinin çoğunluğunu kan dolaşımına tekrar geri döndürmesidir. Böylece su, sodyum klor, glukoz, potasyum ve bikarbonatın yüzde 65'i geri emilirken glikoz(renal eşiğ'e kadar) , aminoasitlerin tümü, proteinlerin, vitaminlerin ve amino asitlerin hemen hemen tümü, ve değışik miktarlarda magnezyum ve kalsiyum gibi iyonlar yeniden emilirler. Maddelerin túbüler lümeninden peritúbüler kapiller plazmaya hareketine ve bu sürece túbüler geri emilim adı verilir. Su ve klor iyonları istisna olmak üzere ki bu süreç aktif olarak yürür. Túbüler epitel hücreleri bu maddeleri plazma membranlarından kana taşımaları için enerji kullanırlar. Taşınma sürecine katılanların normal olarak etkili geri emilim için yeterli rezervleri vardır. Bundan dolayı filtrasyondaki her bir maddenin konsantrasyonu bunun üzerindeyse, ilgili transport sisteminin bunları bağlayacak derecede hızlı işlev göremez ve bundan ötürü filtrattan maddeleri uzaklaştırır. Bu maddeler idrara atılır. Atılan maddelerin idrarda görüldüğü plazma konsantrasyonu renal eşik olarak bilinir ve onun saptanması hem túbüler fonksiyonların hemde renal olamayan hastalık durumlarını değıerlendirmek için uygundur. Su için renal eşik yoktur çünkü su her zaman pasif taşınma ile diffüzyon yolu ile düşük konsantrasyonlu ortama taşınır. Klor iyonları da bu durumda sodyum iyonlarının ardından diffüze olur (14) .

Proksimal túbülün diğeri bir fonksiyonu da, penisilin gibi ilaçları ve hidrojen iyonu gibi böbreğin túbüler hücre metabolit ürünlerini sekrete etmektir. Túbüler sekresyon terimi iki değışik yolda kullanılır. Birincisi maddelerin peritúbüler kapiller plazmadan túbüler lümene hareketini tarif eder. Buna ek olarak, túbüler hücreler aynı zamanda da kendi hücre metabolizmalarının bazı ürünlerini túbüler lümendeki filtrata salarlar ve bu túbüler sekresyon olarak adlandırılır. Burada da hücre zarlarından transport hem aktif hem de pasif olur (14).

Artık ürün olan ürik asitin hemen hemen (% 98-100) tümü aktif olarak geri emilirken, sadece proksimal tübülün distal kısmında sekresyona uğrar. Diğer artık ürün üre, yüksek derecede diffüze olabilen bir moleküldür ve renal tübülenden pasif olarak interstitiuma geçer, medullada bulunan osmalite gradyentine katkıda bulunur (14).

Henle kıvrımı: İnen ince kısım, çıkan ince kısım ve çıkan kalın kısım olmak üzere fonksiyonel olarak farklı 3 bölümden oluşur. İnce kısmın inen bölümü suya çok fazla üre ve sodyum dahil çözünmüş maddelerin çoğuna orta derecede geçirgendir. Çıkan kısmın hem ince hemde kalın bölümünde suya geçirgen değildir. Henlenin çıkan kalın kolu furosemid, etakrinik asit, bumetanid gibi diüretiklerin etki bölgesidir.

Distal tübül: Distal tübülün ilk kısmı makula densa'yı oluşturur. Makula densa; jukstaglomerüler kompleksin bir parçası olup kümelenmiş bir grup epitel hücresinden oluşur. Anjiyotensin II , antidiüretik hormon, atriyal natriüretik peptit ve paratroid hormon gibi hormonal kontrolü mevcut. Aldosteron renin-anjiyotensin mekanizmasıyla, daha az oranda da adrenokortikotropik hormon (ACTH) ile regüle edilir (14).

Toplayıcı tübül: Üst bölümlerinde aldosteronun etkisiyle sodyum reabsorbsiyonu gerçekleşir. Klor ve üre de burada reabsorbe edilir. İlâveten toplayıcı tübül antidiüretik hormon (ADH)'nın kontrolü altındadır. Bu peptid hormon, posterior hipofizden salgılanır ve salınımını kan osmolalitesinin artması veya intravasküler volüm azalması tetikler. Yarı ömrü kısadır. ADH su reabsorbsiyonunu stimule eder. Toplayıcı kanal henle kıvrımının çıkan kalın kolu gibi normalde suya geçirgen değildir. Ancak ADH varlığında toplayıcı kanalın lümeninden medullaya pasif difüzyonla su geçişi olur ve idrar daha konsantre edilmiş olur. Bu durum ADH duyarlı aquaporin-2 su kanalları ile sağlanır. Oysa henle kıvrımının inen kolda tübüler lümen içinden medüller intertisyel bölgeye su transportu, proksimal tübüldeki kanallara benzer aquaporin-1 su kanallarıyla sağlanır (13, 14).

Nonprotein nitrojenlerin(NPN) metabolit eliminasyonları: Nükleik asitler, aminoasitler ve proteinlerin yıkım metabolizmaları sonucunda vücutta NPN atıklar üretilir. Bu ürünlerin atılımı böbreğin önemli fonksiyonlarından biridir. Üç önemli madde üre, kreatinin ve ürik asittir (14).

Üre: Üre proteinlerin oksidatif katabolizması sonucunda günlük olarak elimine olan NPN atıklarının %75'den fazlasını oluşturur. Proteinler nitrojen atomlarının uzaklaşmasıyla detoksifiye olarak aminoasitlere yıkılırlar. Amonyak oluşur ve üreye dönüşür böylece toksisitesi kaybolur. Ürenin eliminasyonu için tek önemli yol böbreklerdir. Glomerülden tübüllere filtre olan ürenin yaklaşık % 60-65'i proksimal tübüllerden geri emilir. Geri emilen üre, medulladaki yüksek osmolaliteyi meydana getirir. Bu reabsorbsiyon miktarı; glomerüler filtrasyon hızına(GFH), plazma renal akımına ve idrar akım hızına bağlıdır (14).

Kreatinin: Kaslar kreatin fosfat içerirler. Bu da kreatin kinaz tarafından katalize edilen ATP 'nin hızlı formasyonu için yüksek enerjili fosforil grubudur. Bu kasların ilk önce kullandığı metabolik yakıttır. Hergün kas kreatininin %20'ye kadarı (ve onun fosfatı) spontan olarak dehidrate olur ve dolaşıma girer ve kreatinin atık ürünü oluşur. Bundan dolayı kreatinin düzeyleri kas kütlesinin fonksiyonudur ve kas kütlesinde değişiklik oluncaya kadar yaklaşık olarak daima aynı düzeyde kalır. Kreatinin düzeyi sabittir ve moleküler ağırlığı 113 daltonudur. Bundan dolayı glomerüllerden filtre edilir ancak tübüllerden geri emilimi yoktur. Bundan başka yüksek serum konsantrasyonlarında böbrek tübülleri tarafından küçük miktarlarda sekrete edilir (14).

Ürik asit: Pürin metabolizmasının temel atık ürünüdür. Adenin ve Guanin, ATP ve GTP (Guanozintrifosfat)'nin prokürsörüdür. Ürik asitin molekül ağırlığı 168 daltonudur. Bundan dolayı glomerülden filtre edilir, ancak daha sonra karmaşık reabsorbsiyon ve sekresyon siklusuna girerek nefronlar yoluyla atılır. Orijinal filtratın sadece %6 ile %12'si sonuçta atılır. Ürik asit iyonize ve daha çok çözünebilir formda bulunur. Ürineri pH 5.75'in üzerindeki değerlerinde genellikle sodyum ürat şeklindedir. Bu pH değerinin altındaki değerlerde ayrışabilir değildir (14).

1.1.2.2. Sıvı, elektrolit ve asit-baz dengesi

Su Dengesi: Böbreğin vücuttaki su dengesine katkısı su kaybı yoluyla olur. Su atımı hormonal ADH kontrolü altındadır. ADH temel olarak osmolite ve intravasküler hacim değişikliklerine cevap verir. Osmolitedeki artış ADH salınımını stimüle eder. Bu da toplayıcı kanalların suya karşı permeabilitesini artırır. Bu da suyun resorbsiyonuyla sonuçlanır ve daha konsantre idrar atılımına sebep olur. İntravasküler

volüm azalması da benzer etkiye neden olur. Buna karşın su alımının major regülasyonu susamayladır ki bu aynı stimülatör yani ADH ile tetiklenir (14).

Dehidratasyon durumunda renal tübüller maksimum oranda su reabsorbe eder, çok az miktarda ve maksimum konsantrasyonda idrar üretilir. Su fazlalığı durumunda tübüllerin su absorpsiyonu minimal düzeydedir, fazla miktarda ve oldukça dilüe idrar üretilir. Bu iki ekstrem durum arasındaki ince ayar vücutta sıvı dengesinin tam kontrolünde olur (14).

Sodyum: Sodyum vücutta primer ekstrasellüler katyondur ve başlıca böbrekler yoluyla atılır. Vücutta sodyum dengesi atılım yoluyla kontrol edilir. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron hormonal sistemi, sodyum dengesinin kontrolünün major mekanizmasıdır (14).

Potasyum: Potasyum vücutta intrasellüler ana katyondur. Potasyum konsantrasyonunun tam regülasyonu hücre metabolizması için herşeyden daha önemlidir ve böbrekler vasıtasıyla gerçekleştirilir. Sodyum gibi glomerülden serbestçe filtre edilir ve aktif olarak nefronun her tarafından reabsorbe edilir (Henlenin inen kolu hariç). Potasyum iyonları sodyumla değişim yapmada hidrojen iyonları ile yarışır (proksimal tübülde) ve bu olay vücut tarafından hidrojen iyonlarının korunmasında ve böylece metabolik alkaloz durumunda kompensasyonda kullanılır. Ciddi potasyum eksikliği olduğu durumlarda, distal tübüllerde potasyum sekresyonu durur aslında net bir potasyum geri emilimi gerçekleşir. Bu geri emilim işlemi tip A interkale hücreler yolu ile gerçekleşir. Vücut sıvılarında aşırı potasyum varlığında distal tübülün son kısmı ve toplayıcı kanallardaki tip B interkale hücreler tübül lümenine aktif olarak potasyum sekresyonu yaparak tip A interkale hücresi ile zıt fonksiyon görür (14).

Klor: Ekstrasellüler sıvının başlıca anyonudur. Glomerülden filtre edilir ve proksimal tübülde sodyum reabsorbe edildiğinde karşıt iyon olarak pasif olarak reabsorbe edilir. Henlenin çıkan kolunda potasyum klor pompası ile aktif olarak reabsorbe edilir, keza sodyum da böyledir. Bu pompa loop diüretikleri tarafından inhibisyonu mevcuttur. Klor iyonu, böbrekte sodyum regülasyonu ile aynı kontrole sahiptir (14).

Fosfor: Ekstrasellüler ve intrasellüler sıvı içeriğinin her ikisinde de yaklaşık olarak dengede olur. Ya proteine bağlı veya proteine bağlı olmayan formda bulunur. Paratroid hormonun kontrolü altında proksimal tübülden reabsorpsiyonu ile

ayarlanır. Patolojik parathormon yüksekliğinde tübüllerden fosfat Emilimi azalarak atılımı artar (14).

Kalsiyum: Hücre içi en önemli katyonlardan biridir. Hücrede en önemli inorganik haberci maddedir. Koagülasyon mekanizmasının önemli bir faktördür. Kalsiyum da proteine bağlı ve bağlı olmayan formda bulunur. Proteine bağlı olmayan formda kalsiyum ya iyonizedir ve fizyolojik olarak aktiftir ya da fosfat, bikarbonat gibi maddelerle çözünebilir bağlarla küçük kompleksler halledir. İyonize formdaki kalsiyum glomerülden serbestçe filtre olur ve parathormon (PTH)'nın kontrolü altında proksimal tübülden reabsorbe edilir. Buna karşın, kalsiyum konsantrasyonunun renal kontrolü kalsiyum regülasyonunun temel komponenti değildir. Barsaktan ve kemik depolarından kalsiyum absorpsiyonunu PTH ve kalsitonin kontrolü altındaki regülasyonu renal sekresyondan daha önemlidir (14).

Magnezyum: Toplam magnezyumun yarısından fazlası kemiklerde depolanmıştır. Hücre içi major katyonlardan biridir ve enzimatik kofaktör olarak öneme sahiptir. Fosfat ve kalsiyum gibi proteine bağlı ve bağlı olmayan iki durumda bulunur. Proteine bağlı olmayan fraksiyonu glomerülden kolayca filtre olur ve PTH etkisi altında proksimal tübülden resorbe olur. Magnezyumun atılımını hızlandıran faktörler hücre dışı sıvıda magnezyum fazlalığı, hücre dışı hacimde artma ve hücre dışı kalsiyum artışıdır (14).

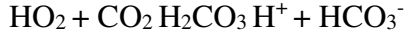
Asit Baz Dengesi: Vücut metabolizmasında normal şartlarda bir çok asidik artık ürünler oluşturulur. Karbonik asit, laktik asit, keto asitler ve diğerleri fizyolojik pH'da büyük değişikliklere neden olmadan plazmada taşınmalı ve vücuttan atılmalıdır. Vücut pH'sının kontrolünün yapılmasında renal sistem 3 mekanizmadan birisini oluşturur. Diğer iki regülasyon mekanizması respiratuar sistem ve asit-baz tamponlama sistemidir.

Böbrekler vücut pH'sının kontrolündeki görevini iki yolla gerçekleştirir: Bikarbonat iyonlarının tutulması ve metabolik asitlerin atılması.

Bikarbonat iyonlarının rejenerasyonu: Komplike bir mekanizmayla bikarbonat iyonları öncelikle glomerülden plazma dışına filtre edilir. Renal tübüle geldiğinde bu bikarbonat hidrojen iyonları ile birleşerek karbonik asiti oluşturur ve bu molekül daha sonra CO₂ ve suya ayrışır. Bu karbondioksit proksimal tübül hücrelerinin fırçası kenarlarına diffüze olur ve orada karbonik anhidraz (KA) tarafından karbonik

asite çevrilir. Sonra hidrojen ve bikarbonat iyonlarına ayrışır. Bu reaksiyon aşağıda gösterilmiştir :

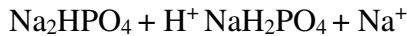
KA



Bu yeni oluşan bikarbonat metabolizma tarafından kullanılanın tekrar yerine konulması için kana verilir. Bikarbonata eşlik eden hidrojen iyonları, tübüler lumene sekrete edilirler ve oradan idrara geçerler. Böylece filtre edilmiş bikarbonat sirkülasyona reabsorbe edilir. Orada kan PH'sını optimal düzeylere dönmesine yardım eder ve diğer tampon sistemleri gibi etkinlik gösterir (14).

Amonyum (NH₃) reaksiyonu: Glomerüller amonyumu filtre etmez. Ancak glutamin amino asiti amonyağı nontoksik olarak kandan böbreğe taşır. Böbrekte glutaminaz tarafından deamine edilir ve renal tübülde amonyum teşekkül etmiş olur. Sonrasında amonyak sekrete edilen H⁺ iyonlarıyla amonyumu meydana getirir. Amonyum lümen dışına diffüze olamaz ve idrarla atılır. Asit atılımının bu şekli, metabolik asidozun böbrek yoluyla kompensasyonunda en önemli mekanizmadır (14).

Monohidrojen fosfat reaksiyonu (HPO₄²⁻): Glomerüller tarafından filtre edilmiş fosfat iyonları disodyum hidrojen fosfat olarak tübüler sıvı içinde bulunabilir. Bu molekül dihidrojen fosfat elde etmek için atılan hidrojen iyonlarıyla reaksiyona girer. Bu molekül daha sonra idrarla atılır ve idrarın ölçülebilir asiditesinden sorumludur. Reaksiyon ise şöyledir:



Salınan sodyum, sodyum bikarbonat oluşturmak üzere bikarbonatla birleşir ve reabsorbe edilir. Bu mekanizmalarla, metabolik asitlerin artan miktarları maksimum idrar pH'sı olan yaklaşık 4,4 oluncaya kadar atılırlar. Bu noktadan sonra renal kompensasyon mekanizması asidozu daha fazla düzeltmeye yeteli değildir ve metabolik asidoz kaçınılmazdır. Çok az serbest hidrojen iyonları direkt olarak atılabilir (14).

Endokrin Fonksiyon: Böbreklerin birçok atılım ve regülasyon fonksiyonlarına ilaveten endokrin fonksiyonları da vardır. Böbrekler hem kendi hormonunu üreten primer endokrin organdır hem de diğer endokrin organlardan gelen hormonların hedef organıdır (14).

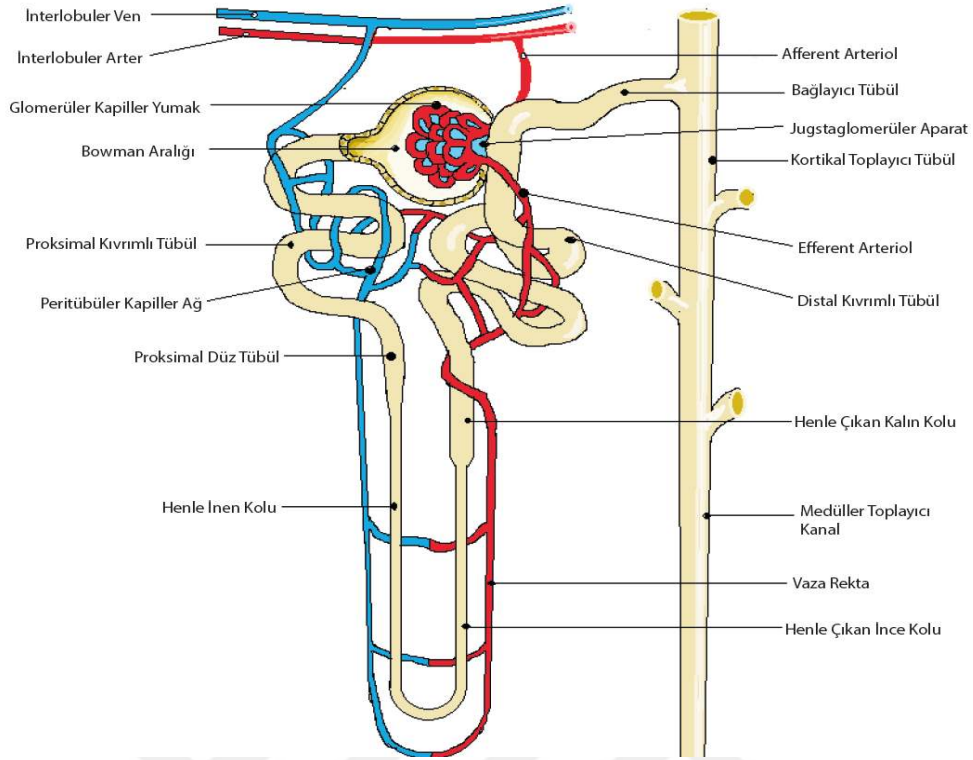
Primer Endokrin Fonksiyon: Böbrekler, renin, prostaglandinler ve eritropoietin sentezler (14).

Renin: Renin, anjiotensin-aldesteron feed back sisteminin başlangıç komponentidir. Plazmadaki anjiotensinojenden anjiotensin oluşumunu katalize eder. Ekstrasellüler sıvı volümü azaldığında renal medüllerin jukstaglomerüler hücreleri tarafından üretilir. Reninin, kan basıncını arttırıcı vazokonstriktör görevi vardır. Ayrıca sodyum ve potasyum seviyelerindeki değişikliklere de cevap verir (14).

Prostaglandinler: Prostaglandinler, esansiyel yağ asitlerinden (öncelikle doymamış araşidonik asitten) oluşmuş halkalı yağ asitleridir. Tüm dokularda yapırlar ve etkileri çeşitlidir. Hormonlar gibi davranırlar fakat prostaglandinler etki ettikleri bölgede sentezlenirler. Etkilerini çok kısa sürede gösterirler ve hızla katabolize olurlar. Ya PG₁ (Prostoglandin₁) ya da PG₂ olabilirler. PG₂ daha sıktır. PGA₂, PGE₂ ve PGI₂ gibi böbreklerden salınan prostaglandinler, renal kan akımını, sodyum ve su atılımını ve renin salınımını artırırlar. Onların etkileri anjiotensin ve norepinefrinden dolayı renal vazokonstriksiyona karşıdır. Anjiotensin II'nin PGE₂'yi stimule ettiğine inanılır. Prostaglandinler antihipertansif tedavide kullanılırlar. Araşidonik asitten, lökotrienler ve tromboksanlar da oluşabilir. Bunların inflamasyon ve bronkokonstrüksiyon gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri vardır (14).

Eritropoietin: Tek zincirli bir polipeptiddir. Proksimal tübül hücreleri tarafından üretilir ve üretimi kan oksijen seviyesi ile regüle edilir. Hipokside 2 saat içinde serum konsantrasyonu artırılır. Eritropoetin kemik iliğinde eritroid kök hücrelerde etkisini gösterir, onların matürasyonuna neden olur ve kırmızı kan hücrelerinin sayılarını artırır. Kronik renal yetmezlikte eritropoetin üretimi belirgin olarak azalır (14).

Sekonder Endokrin Fonksiyon: Böbrekler aldosteronun etkileri için hedef organdırlar. Bu da insülin, glukagon ve aldosteronun katabolizması için ve vitamin D'nin aktivasyonun içindir. Vitamin D insan vücudundaki kemiklerin kalsifikasyonu ve fosfat ve kalsiyumun dengesini sağlayan üç temel hormondan birisidir. Bundan ötürü kronik renal yetmezlik osteomalazi ile birliktedir. Buda normal vitamin D metabolizmasının bozulmasından oluşur (14).



Şekil 2. Nefronun anatomik yapısı (13).

1.1.3. Böbreğin Patolojisi

Böbrek yetmezliği, böbreklerin homeostatik düzenleme yetilerini kaybetmeleri sonucu ortaya çıkar. Nefronlar, öncelikle glomerül veya tübül ya da her ikisine zarar veren toksik, anoksik veya immünolojik yaralanmalar sonucu kaybedilirler. Böbreklerin yaralanmaya yanıt olarak işlevsel kapasitelerini belirgin şekilde arttırma yetileri vardır. Bu nedenle böbrek işlevsel kütleindeki önemli miktarda bir azalma (% 50-60) herhangi bir belirgin biyokimyasal değişim ya da herhangi bir önemli belirti açığa çıkmadan gerçekleşebilir. İşlevsel değişimin en duyarlı ve özgül ölçümü glomerül filtrasyon hızı (GFH) 'dir. En küçük bir akut böbrek yetmezliği semptom ve bulgusu olmadan GFH 50 mL/dakika/1.73 m²'nin altına inebilir. Nefron başına düşen iş yükünün artışının tek başına ilerleyici böbrek yetmezliğinin önemli bir nedeni olduğu düşünülür. İyi bilinen bir varsayıma göre, nefron sayısındaki azalma primer renal yaralanmadan bağımsız olarak, öyle bir noktaya gelir ki, bundan sonraki kayıplar interstisyel fibrozise gidişin hızlanmasına neden olur (15).

1.1.3.1 Akut Böbrek Yetmezliği

Akut böbrek yetmezliği (ABY); primer olarak BUN ve kreatinin gibi nitrojen atık ürünlerinin birikimiyle sonuçlanan glomerüler filtrasyon hızında (GFH) ani azalma olarak tanımlanır. Günümüzde ABY yerine artık akut böbrek hasarı (ABH) tanımı da yaygın olarak kullanılmaktadır. GFH'deki azalma genellikle saatler-günler içinde oluşur. İkinci Dünya Savaşında henüz hemodiyaliz sistemi olmadığından ABY'de mortalite %100'e yakındı. Günümüzde mortalite azalmış olmasına rağmen, yoğun bakım ünitelerinde hala %50-80'dir (13).

Etyolojiye göre prerenal, intrarenal ve postrenal olarak sınıflandırılabilir.

1.1.3.1.1. Prerenal Akut Bobrek Hasarı

ABH'nin en sık sebebidir. Tüm vakaların % 40-55'ini oluşturur. İntravasküler volümde azalma (kanama, gastrointestinal kayıplar, renal kayıplar), kardiyak outputta azalma, sistemik vazodilatasyon, renal vazokonstrüksiyon, artmış intraabdominal basınç başlıca nedenlerini oluşturur. Böbrekler total kardiyak outputun % 25'ini aldığı için, vücutta genel olarak doku perfüzyonunda azalmanın bir sonucu olarak veya selektif renal iskeminin sonucu olarak böbrek perfüzyonunda azalma olur. Bu durumda prerenal akut böbrek hasarı oluşur. Parankimal hasar yoktur. Bu nedenle böbreğin perfüzyonu hızlı bir şekilde sağlanırsa renal fonksiyon hızla normale döner. Kalp yetmezliği gibi durumlarda yeterli hidrasyona rağmen böbrek perfüzyonu sağlanamayarak sıvı resüsitasyonuna yanıt alınamayabilir. Azalmış intravasküler volüm, baroreseptör aktivasyonuna dolayısıyla sempatik sinir sisteminin aktivasyonuna neden olur, özellikle nörepinefrin düzeyleri artar. Bu artış, renin, anjiyotensin II ve ADH salınımını artırarak, sistemik vazokontrüksiyona, su ve ürenin geri emilimine sebep olur. Bu nedenle prerenal azotemide üre/kreatin oranı yüksek beklenir.

Anjiyotensin II çok güçlü bir vazokonstrüktördür, öncelikle renal efferent arteriolde vazokontrüksiyon oluşturarak, proksimal tübül boyunca sodyumun geri emilimini artırır. Fraksiyone sodyum ekstresyonu (FeNa), bu nedenle prerenal azotemide %1'den daha azdır. FeNa'nın spesifitesi, prerenal hadiseyi, tübüler hadiselerden ayırmada %80'dir. Vazokonstrüksiyon, böbrek arteriollerinde yanında, splanknik ve muskulokutanöz arteriollerde de oluşmaktadır, beyin ve kalbin kan akımı

böylece korunmaya çalışılmaktadır. Susuzluk stimule olurken, terleme azalır. Azalmış perfüzyon basıncına yanıt olarak, afferent arteriollerde vazodilatasyon gerçekleşerek GFH korunmaya çalışılır. Bu otoregülasyon sistemik ortalama arteriyel basınç 75-80 mmHg'ya ulaşınca kadar devam eder. Prostaglandinler, kinin, kallikrein ve nitrik oksit (NO) düzeyi de artarak bu vazodilatasyona katkıda bulunmaktadır. Non steroid antienflamatuar ilaçlar (NSAİİ) verildiği takdirde prostaglandin düzeyleri azalacak ve renal perfüzyon daha da bozulacaktır. Ayrıca anjiotensin II düzeylerinin artması ile efferent arteriolde oluşan vazokonstriksiyon GFH'yi korumakta, kalp yetmezliği veya bilateral renal arter stenozu gibi durumlarda, afferent arteriol akımında da azalma olacağından ACE inhibitörü verildiği takdirde böbrek fonksiyonları daha da fazla bozulacaktır (13).

1.1.3.1.2. İntrarenal Akut Böbrek Hasarı

İskemik veya nefrotoksik sebeplerle oluşabilir. Böbreğin 4 major yapısı olan tübüller glomerül, interstisyum veya intrarenal kan damarlarının etkilenmesi söz konusudur. Tübüler hasar, uzamış ve şiddetli iskemi veya nefrotoksinler sebebiyle oluşur. Nefrotoksinler endojen (myoglobin, hemoglobin) veya eksojen (kontrast madde, aminoglikozid, amfoterisin gibi) olabilir. Klasik akut tübüler nekroz(ATN)'da 1-2 haftalık oligurik fazı, renal iyileşmeyle birlikte olan 10-14 günlük nonoligurik faz takip eder. Ancak bu süreler hastadan hastaya değişebilir (13).

Glomerüler hasara bağlı gelişen akut böbrek yetmezliği hızlı ilerleyen glomerülo nefrit, SLE, Wegener, infektif endokardit gibi renal veya sistemik hastalıklara bağlı olarak gelişir. İnterstisyel hasar, ilaçlara veya enfeksiyonlara bağlı olarak gelişen akut interstisyel nefrit sonucu oluşur. Vasküler hasar ise malign hipertansiyon, preeklampsi, eklampsi, HÜS, TTP sonucu intrarenal damarlardan kaynaklanan renal perfüzyonda azalma sonucu GFH'de azalma şeklinde olur. Bu gibi tablolarda, oluşan fibrin depolanması sonucu oklüzyon ve inflamasyonun uyarılması neticesinde endotelial hücre hasarı oluşur ve mikrovaskülerite bozulur. Renal arter ve vende total oklüzyon sık görülen bir durum değildir. Ancak membranöz nefropati gibi hiperkoagülasyona eğilim oluşturan durumlarda renal ven trombozu ya da anjiyografik işlemler sonrası kolesterol embolisi gibi durumlar ortaya çıkabilir (13).

1.1.3.1.3. Postrenal Akut Hasar

Üretral obstrüksiyon, mesane veya üreterlerde obstrüksiyon sonucu oluşur. En sık neden mesane boynunun fonksiyonel veya yapısal obstrüksiyonudur. Obstrüksiyon açıldıktan sonra GFH'nin normale dönmesi obstrüksiyonun suresine bağlıdır. Obstrüksiyon gelişen hastaların %5'inde ABY gelişir. Nefronlara doğru geri idrar akımı GFH'yi düşürecek (13).

1.1.3.1.4. Akut Tubuler Nekroz

Genelde prerenal ve postrenal azotemisi olmayan ABY'li hastaları tanımlamak için kullanılır. Tübüler tutulum olması dolayısıyla doğru hasar bölgesini işaret etmesine rağmen, az sayıda tübüler epitel hücresi nekroza uğrar. Sıklıkla renal tübüler hücrelerde geri dönüşümü mümkün değişiklikler mevcuttur, bu nedenle belki "Akut Tübüler Hasarlanma" terimini kullanmak daha doğru olabilir. ATN, başlangıç, uzama, idame ve iyileşme olarak 4 faza ayrılabilir ve bu evreler, oluşan hücresel değişikliklerle direkt olarak ilişkilidir. Başlangıç evresi, renal kan akımı belli bir seviyenin altına indiğinde başlar, ATP'de azalmaya ve tübüler epitelyum hücre hasarına yol açar. Renal proksimal tübül epitelyum hücrelerinde F-aktinin normal çerçevesinde bozulma oluşur. İskeminin süresi ve şiddeti bu hasarlanmada önemlidir. Uzamış iskemi, vasküler düz kas hücrelerinin iskemik hasarı, renal vasküler yapılarda da yapısal bozulmalara yol açar. Ayrıca epitelyal ve endotelyal hücre aktivasyonu, inflamasyon kaskadının başlamasında önemli olan kemokin ve sitokinlerin up-regulasyonuna yol açar. Uzama evresinde, iskemi ve inflamasyon devam eder. Bu süreç kortikomedüller bileşke ve dış medüller bölgede daha belirgindir. Proksimal tübülde ise onarım ve tamir başlar. Ancak kortikomedüller hasar devam ettiği için GFH düşmeye devam edecektir. Ayrıca kemokin ve sitokin salınımı da devam eder. İdame fazında ise, hücresel ve tübüler bütünlüğü yeniden sağlamak için, hücre tamiri, apoptozis, migrasyon ve proliferasyon yoğun bir şekilde devam eder. Kan akışı normale döner, hücresel fonksiyon düzelir, GFH stabil kalır. İyileşme evresinde ise, hücresel farklılaşma sürer, hücre ve organ fonksiyonu normale gelir. Yani renal fonksiyon direkt olarak hücresel hasarlanma ve iyileşme ile koreledir (13).

ATN'de iskemik hasar en şiddetli olarak proksimal tübülün S3 segmentinde ve Henle'nin çıkan kalın kolunda olur. Normalde renal medulla hücreleri, daha düşük

meduller kan akımı olması ve oksijen basıncının bu bölgede 10-20 mmHg daha düşük olması sebebiyle hipoksiye daha eğilimli olmasına rağmen, erken proksimal tübül hücreleri iskemiye daha yatkın görünmektedir. Hipoksiye karşı oluşan bu sensitivite, endojen nitrik oksit oluşumuyla daha da şiddetleniyor gibi görünmektedir. Bu segmentler içinde en çok S3 segmenti etkilenir. Bunun sebepleri, anaerobik glikolizin bu alanda sınırlı olması, venöz kapiller kan akımının yetersiz olmasıdır. Erken proksimal tübülün diğer segmentleri olan S1 ve S2 segmentleri ise toksinlerin geri alımının artmasına neden olan endositoz yüksek oranlarda olduğundan toksik nefropatiye daha yatkın bölgelerdir. ATN'nin klasik histolojik bulgusu, proksimal tübüldeki apikal fırçamsı hücrelerin kaybıdır. Diğer patolojik değişiklikler, tübüler hücrelerde yama şeklinde kayıplar, proksimal tübülde yer yer dilatasyon, distal tübülerkastlar ve iyileşme döneminde ortaya çıkan hücresel rejenerasyon alanlarıdır. Ayrıca kötü oksijenasyon sonucu; tübüllerde kalsiyumun intraselüler birikimi, reaktif oksijen ürünlerinin üretimi, fosfolipaz ve proteazların aktivasyonu, ATP eksikliği ve apoptozis sonucu tübüler hasar oluşur.

Hücre, bazal membran adezyonu bozulduğundan, hem ölü hücre debrisleri ve hem de sağlam olan hücreler tübüler lümene geçerler. Bu da tübüler obstrüksiyona yol açar. Bu tübüler lümene geçen kastlardan bir kısmını Tom Harsfall proteinleri oluşturur. Normalde monomer halinde bulunan bu proteinler, lümen içine geçtiğinde yüksek sodyum konsantrasyonundan dolayı polimer haline dönüşerek, jel benzeri bir materyale dönüşmektedir. Bu da distal tübülde, yaşayan, apoptotik, tübül hücre debrisleri, fırçamsı kenar membranları ve ekstraselüler matriksten kast oluşması için bir ortam oluşturmaktadır (13).

1.2. Hücre İskeleti ve İntraselüler Yapısal Değişiklikler

Aktin; hücre polaritesi, endositoz, ekzositoz, hücre motilitesi, organellerin hareketi, hücre bölünmesi ve migrasyonu, bariyer, adezyon ve sinyal transdüksiyonunda önemli rol oynar. Aktin fonksiyonundaki bir azalma, bu fonksiyonların bozulmasına neden olur. Özellikle proksimal tübüler hücreler etkilenir. Hücrenin fonksiyonu için esas olan apikal membrandaki mikrovillüslerin fonksiyonunu etkiler. Aktin mikroflamentleri F- ve G- aktin olmak üzere iki tiptir. F- aktin, proksimal tübüldeki mikrovillüslerin majör yapısal komponentidir. F- aktin

mikrovillüslerin uç kısmında uzanır, ATP eksikliği durumunda F-aktinde ciddi kayıp oluşur. Bunun sonucu olarak, sıkı bağlantı noktalarında bozulma sonucu hücreler arası geçirgenlikte artış olur. Glomerüler filtrat bu bölgelerden intersitisyel bölgeye doğru kaçak oluşturur (13).

1.2.1. Apoptozis ve Nekroz

Nekroz çoğunlukla proksimal tübülde oluşurken, apoptozis genelde distal tübülde oluşur. Apoptozis ilk olarak 1972 yılında Kerr tarafından tanımlanmıştır. Aslında apoptoz embriyonik gelişim sırasında normal morfogenezin gelişiminde, T ve B lenfositlerin gelişiminde, yaşlanma sürecinde gerekli bir süreçtir. Yani organizma için gereklidir fakat defektif veya aşırı apoptozis durumları patolojik bir durum olarak kabul edilir. Böbrekte; iskemi, toksik hasar, radyasyon ve üreteral obstrüksiyon gibi nedenlerle apoptozis oluşur. Enerji gerektiren bir olaydır. En erken morfolojik özellikleri, nükleer ve sitoplazmik büzüşme, kromatin fragmantasyonu ve apoptozis sonucu oluşan apoptotik cisimciklerin fagositozudur. Apoptozisin en temel özelliği membran bütünlüğünün bozulmamasıdır. Bu sayede sellüler ve lizozomal içeriğin interstisyuma geçişi önlenir ve inflamatuvar reaksiyonun çevre dokulara yayılması engellenir (13).

Apoptozda ekstrinsik ve intrinsik olmak üzere 2 ana yolak tanımlanmıştır. Ekstrinsik yolda ölüm reseptörlerinin ligasyonu, FADD, kaspaz 8-10 gibi proteinlerin aktivasyonuna yol açar. İntrinsik yolda ise intraselüler organeller içinde en önemlisi mitokondridir. Mitokondride Bax/Bak aktivasyonu dış mitokondrial membranın geçirgenliğini artırır ve sitokrom C, SMAC7, DIABLO, AIF gibi proapoptotik faktörlerin artmasına yol açar. Bcl-2 ilişkili Bcl2 ve BclxL gibi antiapoptotik proteinler ise BH3-only proteinleri ilişkili Bax ve Bak'ı inhibe ederken IAP direk olarak kaspaz 9'u inhibe eder (13).

Hücre yaşamı ve ölümü arasındaki denge bu proapoptotik ve antiapoptotik moleküller arasındaki dengeye bağlıdır. Apoptozisin tersine nekrozda, hücrede şişme, tüm sitoplazmada dejenerasyon vardır, organellerde majör değişiklikler oluşur, hücre bütünlüğü kaybolur. Etkilenen hücre rüptüre olur ve hücre içeriği çevre dokulara yayılır. Bunun sonucu olarak da inflamasyon tetiklenir (13).

Bu iki süreç birlikte olabilir veya bir spektrumun iki formu olarak düşünülebilir. Hem apoptozisin hem de nekrozun şiddeti, iskeminin süresi arttıkça artar. Apoptozis enerji gerektiren bir durumdur. ATP çok düştüğünde nekrotik hücre ölümü gelişirken, ATP düzeyi daha ılımlı olarak azaldığında ise apoptotik hücre ölümü ön plana çıkar (13).

1.2.2. Parankimal İnflamasyon

İnflamatuar cevap ABY'de önemli rol oynar. İnflamasyon endotel disfonksiyonu ile başlar ve iskemik proksimal tübülde çok sayıda güçlü medyatörün üretilmesiyle daha da artar ve bu maladaptif cevap olarak adlandırılabilir. Bunlar proinflamatuar sitokinleri (TNF alfa, IL1-IL6, TGF-beta) ve kemotaktik sitokinleri (MCP-1, IL-8 ve RANKES)'i kapsar. Toll like reseptör 2 (TLR2), proinflamatuar cevabın önemli bir komponentidir. TLR2'nin gen ekspresyonu önlenirse, iskemiyeye bağlı renal disfonksiyon, nötrofil akümüasyonu, tübüler apoptozis, MCP-1, TNF-alfa, IL-1 ve IL-6 indüksiyonu inhibe edilir. BNP-7, iskemik ATN'de indüklenir, MCP-1, IL 1, IL-6, IL-8 seviyelerini azaltarak böbreği koruyucu rol oynar (13).

Bazı lökosit alt tipleri, nötrofiller, postiskemik böbrekte birikir. Nötrofil fonksiyonunda azalma ya da blokajın iskemiyeye karşı koruyucu etkisi olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Th2 hücrelerinin koruyucu, Th1 hücrelerinin zararlı olabileceği ile ilgili çok net olmayan çalışmalar mevcuttur. B hücre ile ilgili çalışmalarda da, B hücre eksikliği olan farelerde iskemik ABY'ye karşı koruma sağlandığı gösterilmiştir. Kompleman sisteminin aktivasyonu son yıllarda ABY için dikkat çekici bir konudur. C5a güçlü bir kemoatraktandır ve inflamasyonu güçlendirir. Normalde böbrekte proksimal tübül hücrelerinde C5a eksprese edilir. Ancak iskemi/reperfüzyon ve sepsis gibi durumlarda ekspresyonu daha da artar. C5a reseptör antagonistlerinin iskemik ABY'yi azalttığına yönelik deneysel çalışmalar devam etmektedir (13).

1.2.3. İyileşme ve Yenilenme

Hasarsız kalan renal tübül hücreleri, yenilenme kabiliyetine sahiptir. Daha önceki çalışmalarda, yeni hücrelerin sağlam kalan proksimal tübül hücrelerinden oluştuğu gösterilmesine rağmen, daha sonra kemik iliği hücreleri, hematopoetik kök hücreler, mezenkimal kök hücrelerden oluştuğunu gösteren çalışmalar yayınlanmıştır.

Dediferansiye epitelyum hücrelerinin ortaya çıkışı, iyileşmenin habercisidir. Hücreler, IGF-1, hepatosit büyüme faktörü ve FGF gibi büyüme faktörlerini kodlayan genler upregüle olur. Hücreler, nöral hücre adezyon molekülü (NCAM) ve osteopontin gibi farklılaşma faktörleri eksprese eder. Bu durum, normal epitelyum hücrelerinin oluşumu tamamlanana kadar devam eder. İntrauterin fazda böbrek gelişimi için gerekli olan Ets-1 ve Wnt-4 gibi faktörler ABY'nin iyileşme döneminde ciddi olarak artar (13).

Ancak ABY'de iyileşme bazen maladaptif olur. İnkomplet tübüler iyileşme, persistan inflamasyon, fibroblastların proliferasyonu, aşırı ekstrasellüler matriks depolanması olabilir. Peritübüler damarların kaybedilmesinden kaynaklanan hipoksi, makrofajların kronik aktivasyonu gibi bağışıklık sisteminin bozulmasından kaynaklanan pek çok faktör rol oynarlar. Epitelyal hücresi hayatta kalmaya çalıştıkça TGF-B 1 ve konnektif doku büyüme faktörü gibi profibrotik faktörler üretilir. Şiddetli böbrek hasarında hücre G2/M fazında kalır. Bu fazda kalması, JNK sinyalinin aktivasyonu yolu ile TGF-B 1 ve konnektif doku büyüme faktörünün üretimini kolaylaştırır. Bu durum fibrogenezi aktive ederek uzamış fibroblast aktivasyonu ve fibrozise neden olur (13).

1.2.4. Septik Şokta ABY

Yoğun bakım ünitelerinde siktir, mortalite ve morbiditenin önemli bir nedenidir. Septik şoka bağlı ABY'nin hemodinamik olduğu kabul edilir ve bu nedenle tedavide perfüzyon basıncı ve renal kan akımı arttırılmaya çalışılır. Ancak biyopsilerde sadece hipoperfüzyona bağlı tübüler nekroz görülmez, beraberinde kapiller lökosit infiltrasyonu ve epitelyal hücre apoptozu da görülür. Lipopolisakkarit, bakteriyel duvarın bir komponenti, aynı zamanda bilinen bir endotoksindir ve septik şokun majör sebebidir. Hem direk hem sistemik yolla sitokin salınımını uyararak tübüler hücre apoptozu yaparak ABY oluşturur. Kaspaz inhibisyonu apoptotik hücre ölümünü önler ve inflamasyonu azaltır. GSK3-B, endotoksemiye aktive eder ve ABY'ye katkıda bulunur. Farelerde GSK3-B inhibisyonunun endotoksemiye bağlı apoptozisi önlediği gösterilmiştir. Sepsiste epitelyal hücre hasarının yanında endotelial hücre hasarı da oluşur.

Endotelial hücre hasarı, mikrovasküler akımı bozar, hipoksi ve iskemi, epitelyal hücre hasarına neden olur. Aynı zamanda vasküler permeabiliteyi artırarak glomerüler filtratın geri akımına yol açar, bu da inflamasyonu artırır, aynı zamanda GFH'yi azaltır. Gram negatif sepsiste lipopolisakkarit yanında TNF-alfa 1 reseptörü kaspaz 8 aktivasyonu yaparak apoptoza neden olur. Teorik olarak sitokinlerin dolaşımdan uzaklaştırılması, sitokin supresyonu ve antiapoptotik medyatorlerin verilmesi organ fonksiyonu korur ancak pratik uygulamada faydaları net değildir (13).

1.2.5. Toksik Renal Hasar

İlaçlar, pigmentler (hemoglobin, myoglobin) ve IV kontrast ajanlar apoptoza neden olarak toksik ABY'ye neden olur. Sisplatin hem ABY'ye hem KBY'ye neden olan bir kemoterapotik ajandır. Tübüler epitelyal hücre toksisitesi, renal mikrovasküler vazokonstriksiyon ve inflamasyon sisplatinin neden olduğu ABY'ye katkıda bulunur. ABY riski, plazma platinum düzeyinin artması ile, ek nefrotoksik ajanların kullanımı ile, daha önce aynı ilacın kullanımı ile ve önceden bilinen KBY varsa artar. Sisplatin primer olarak proksimal tübülün S3 segmenti ve distal tübülde hasarlanma oluşturarak GFH'de azalma oluşturur. Apoptozu indükleyen hücre içi olayları indükler. Ayrıca hem proinflamatuvar sitokinleri hem de kemokinleri aktive eder. TNF-alfa ilişkili inflamasyon sisplatin ile aktive edildiğinden, fare deneylerinde TNF alfa inhibisyonu, sisplatinin indüklediği renal disfonksiyonu ve apoptozisi düzeltir. Normalde vücutta tespit edilemeyen ve tümör süpresör molekül olan p53 sisplatin tedavisi ile ciddi olarak artar. Bu molekül kaspaz aktivasyonu yaparak apoptozu indükler ve ABY'ye katkıda bulunur. ABY'ye katkıda bulunan diğer etkileri hücre siklus proteinlerinin ekspresyonunu değiştirmek, mitokondrial hasar oluşumu, reaktif oksijen ürünlerini artırmasıdır (13).

Myoglobin normalde glomerüllerden serbestçe filtre olur. Ancak renal tübüle çok miktarda myoglobin girdiği zaman Tamm-Horsfall proteini ile etkileşir ve çöker. Asidik idrar bu olayı daha da kolaylaştırır. Özellikle distal tübülde tübüler obstrüksiyon oluşur. Kas ve böbrek epitelyal hücrelerde hasarlanma ile ortaya çıkan reaktif oksijen ürünleri myoglobinde bulunan ferröz oksiti (Fe^{+2}) ferrik oksite (Fe^{+3})'e dönüştürür. Hem hem parçaları, hem de oluşan serbest hidroksil radikalleri özellikle proksimal tübülde direk tübüler toksistesinin önemli parçalarıdır (13).

Kontrasta bağılı ABY ise birkaç yolla oluşur. Kontrast madde hemodinamik etkileri ile, reaktif oksijen ürünleri ve serbest radikallerin etkileri ve direk tübüler hücre toksisitesi yaparak kontrast nefropati oluşturur.

Sonuç olarak ABH, farklı etyolojik nedenlerle ortaya çıkabilen, fizyopatolojisi karışık, henüz tam olarak anlaşılamamış bir süreçtir. Etyolojik faktörün biran önce belirlenmesi ve düzeltilmesi kalıcı renal hasarı önleme açısından yararlıdır (13).

1.3. İskemi/Reperfüzyon

1.3.1. İskemi

İskemi organın bir kısmının ya da tamamının kanla beslenmesinin kesilmesine veya otonöregülasyonu bozacak şekilde azalmasına bağılı olarak dokunun perfüzyonundaki yetersizlik sonucu dokuların ve organların oksijenden yoksun kalması olarak tanımlanır (16). İskeminin süresi ve şiddetine bağılı olarak organ ya tamamen iyileşecek ya da kritik iskemi süresi aşılar aşılmaz hasara uğrayacaktır. İnsanlarda kritik iskemi süresi, vücut sıcaklığında beyin için olan birkaç dakikadan böbrek için olan 30 dakikaya kadar değişebilmektedir (17).

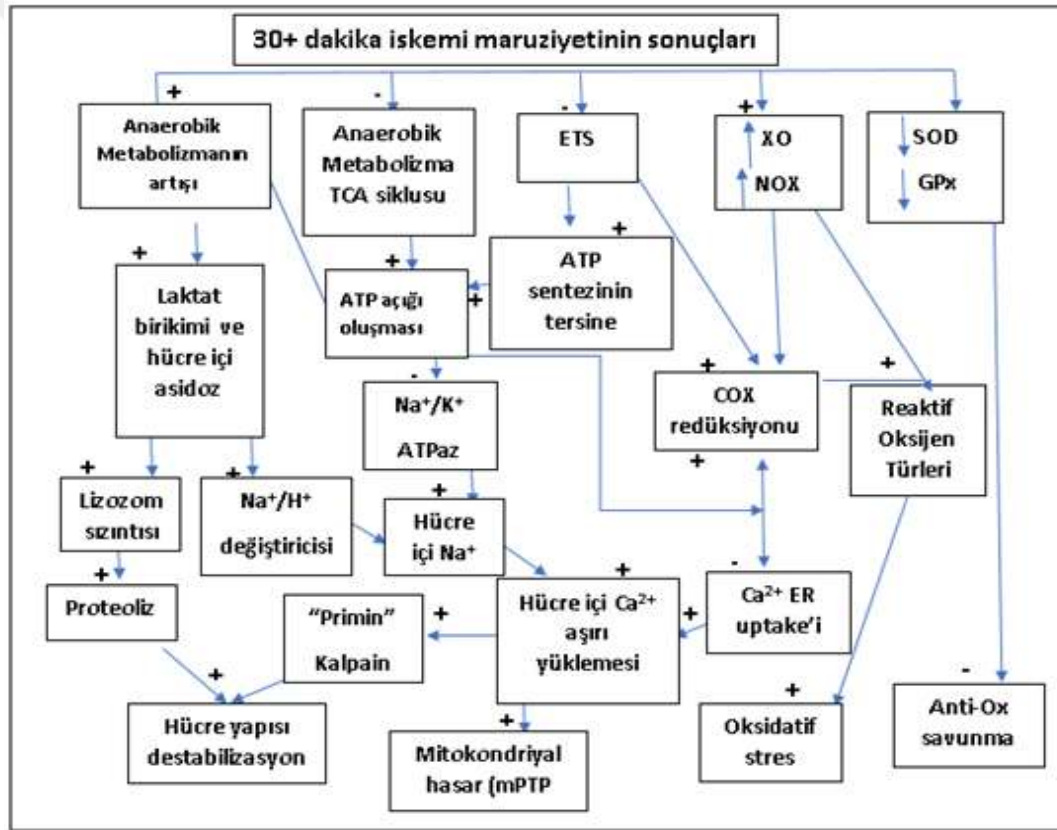
İskemi tarafından indüklenen ilk değişiklik azalmış oksijen taşıması ve sunumu ile ilişkilidir. Azalmış O₂ seviyesi aerobikten (TCA siklusu ile 1 molekül glikozdan 36 molekül ATP üretimi) anaerobik glikoz metabolizmasına (Laktat sentezi ile 1 molekül glikozdan 2 molekül ATP üretimi) geçişe sebep olacaktır (18). ATP üretimi azaldığı halde kullanımının devamı AMP ve adenozin birikimine yol açar. Adenozin ise hücre dışına diffuze olduktan sonra parçalanarak hipoksantine dönüşür. Yani iskemi sonrasında dokuda ATP'nin yıkılması ksantin ve hipoksantin birikiminin yanı sıra ksantin dehidrojenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne de sebep olur. Normalde hipoksantin metabolize olarak ürik asite dönüşür ve burada elektron alıcısı NAD⁺'dir (nikotinamid adenin dinükleotid'in okside formu) (19). Fakat iskemiden kaynaklı oksijen azlığı nedeniyle KDH, KO'a dönüştüğünden hipoksantin KO tarafından ürik asite dönüştürülür ve buradaki elektron alıcısı moleküler oksijendir (20). Aerobik metabolizmanın sürdürülememesi sonucu kullanılmaya başlayan anaerobik metabolizma aerobik dokuların oksijen talebini karşılamak için yetersizdir ve oksijen eksikliği elektron transfer zincirinin inhibisyonu ile sağlanan mitokondriyal membran potansiyelini korumak için ATP

sentaz F1F0'nın tersine dönmesiyle (ATP'yi sentezlemek yerine hidrolize ederek) mitokondrilerde ATP tüketimini daha da artırır (21). Bu yüzden hücre içi ATP seviyesi hızlıca düşecektir ve bu düşüş doğrudan iskemi süreciyle bağlantılıdır. Buna ilaveten laktat bağımlı ATP üretimi kan akışı tarafından götürülemeyecek kadar laktatın hücre içinin yanı sıra hücreler arasında da birikimine sebep olur ve hücre içi asidoza yol açar. Hem hücre içi pH'nın hemde ATP seviyelerinin düşmesi: I) Lizozom membranını destabilize edecek ki bu durumda hücre yapısının bozulmasına yol açarak çeşitli hidrolazlar sızacaktır (22), II) iyonik pompaları, özellikle sodyum/potasyum ATPaz'ı inhibe edecek (23, 24), bu yolla elektrolit homeostazisini bozarak yoğun sodyum iyonu ve su girişi olacak ve ödeme yol açacaktır (18) (Şekil 3).

Hücre içi sodyum seviyesi protonu hücre dışına sodyum iyonunu hücre içine alan sodyum/hidrojen değiştiricisinin aksiyonuyla daha da artırılır bu da hücre içi pH'yı düzeltmek için bir girişimdir (25) (Şekil 3). Sodyum iyonları hücre içinde toplandıkça sodyum/kalsiyum antiportu kalsiyumu hücre dışına pompalamayı bırakır ve ters yönde çalışmaya başlar. Hücre içi kalsiyum seviyesi, ATP kaybından dolayı kalsiyumun endoplazmik retikulumun içerisine geri alınımıyla daha da artırılır (26). Bu fenomenlerin hepsi birlikte, iskemik faz sırasında düşük pH seviyesi tarafından inhibe edilen ama reperfüzyondaki pH normalizasyonu ile aktive olacak olan calpain gibi kalsiyum bağımlı proteazların aktivasyonlarını ateşleyerek bir kalsiyum aşırı yüklemesi ortaya çıkarır (27). Artmış hücre içi sodyum ve kalsiyum seviyeleri kalsiyumun aşırı yüklemesine yol açarak mitokondrilerin kalsiyumu mitokondriyal matrikste alıkoymalarına sebep olur. Mitokondriyal kalsiyum aşırı yüklemesi sitokrom c'nin mitokondriyal iç membrandan uzaklaştırılmasını artırarak iskemi sırasında reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimine doğrudan müdahil olur. Bu durum 2 aşamalı mitokondriyal geçiş porlarının (mPTP) açılmasındaki sitokrom c salınımı sürecinin ilk basamağıdır (28). Fizyolojik pH'da aşırı mitokondriyal kalsiyum mPTP açılımıyla, hücre ölümü ve apoptozis ile bağlantılı bir olaydır (29). İskemi sırasında kalsiyum indüklü mPTP açılması düşük hücre içi pH tarafından engellenir ama bu reperfüzyona bağlı olarak pH değerleri normale döndüğü zaman meydana gelecektir (29). İskemi ve kalsiyum aşırı yüklenmesi mPTP'yi açılmaya karşı hassaslaştırır (Şekil 3).

Hipoksi sırasında, reperfüzyon sonrasına kıyasla düşük miktarda reaktif oksijen türleri (ROT) üretilir. Hipoksi esnasında; sitokromların redoks

redüksiyonunun onların oksijen'e doğrudan elektron transferi (sızma) yapabilmesine olanak sağlamasıyla (30); tetrahidrobiopterin ve oksijen varlığında NO üretmek için arjinin'i redükte eden nitrik oksit (NO) sentazı ayırmasıyla (31); Ksantin oksidaz ve NADPH aktivasyonlarıyla ROT üretilir (32). Oksidatif stres ayrıca süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesindeki hipoksiye bağlı azalmayla da artırılır(32,33). Tüm bunlara rağmen iskemi sırasında reperfüzyon sonrasında gözlenen kıyasla çok az hücre kaybı vardır (In vitro iskeminin uygulanmasından 1 ve 4 saat sonra kardiomyositlerin sırasıyla %4 ve %17'si canlılığını yitirdiği, kıyaslanacak olursa 1 saatlik iskemiye takiben 3 saatlik reperfüzyon sonrasında canlılığını yitirme oranının %73 olduğu bildirilmiştir) (34).



Şekil 3. İskeminin sonuçları şematize edilmiş hali (16).

1.3.2. Reperfüzyon

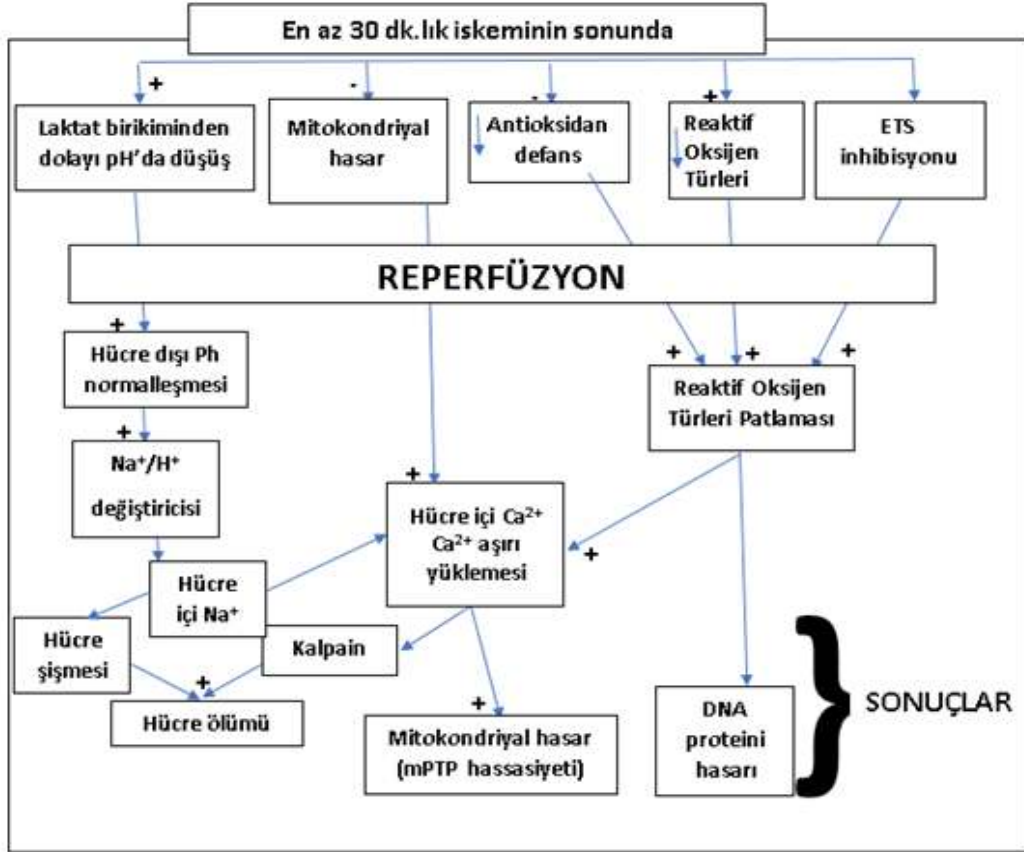
Kan akışının restore edilmesine bağlı olarak, ekstrasellüler alanın normale değişimi ile oksijen seviyeleri hızlı bir şekilde yükselir ve ekstrasellüler pH hızlı bir şekilde normalize edilir. Çelişkili bir biçimde normaliteye olan bu hızlı dönüşler

iskemiye maruz kalan hücreler için zararlıdır. Yukarıda da bahsedildiği üzere iskemi sonunda hücreler, düşük hücre içi pH, kalsiyumun indüklemiş olduğu bir mitokondriyal hasar (mPTP hassasiyeti), antioksidan savunmanın düşük regülasyonu ve elektron transfer zincirinin sitokrom C kompleks IV'ün inhibisyonu durumundadır (Şekil 4). Organ reperfüze edildiği zaman hücre dışı pH'nın fizyolojik değerlere ani dönüşü, birden sodyum/hidrojen değişimini ve yoğun sodyum akınını tetikleyen ve plazma membranı boyunca uzanan hidrojen gradyanı oluşturur (26). Hücre içi sodyum içeriğinin bu ilave artışı iskemi sırasında mPTP'lerin açılması ve kalpainlerin aktivasyonuna çoktan hazır ettiği sitoplazmik ve mitokondriyal kalsiyum aşırı yüklenmesinin devam etmesine yol açarak sodyum/kalsiyum değiştiricisini ters çevirecektir.

Hücre içi pH'nın reperfüzyona bağlı normalleşmesi kalpainleri aktive edecektir ve mPTP'nin açılışına iştirak edecektir. Kalpainler aktive olduğu zaman yapısal bozukluklar, mitokondriyal disfonksiyon ve değişmiş kalsiyum işlenmesine yol açarak proteinleri hedef alırlar (27). En nihayetinde kalpainlerin aktivasyonu hücre ölümüne yol açar. Normoksiye hızlı dönüş iskemi sırasında gerçekleşen kompleks IV'ün ATP inhibisyonunda kayıp (35) ve antioksidan savunmada redüksiyonla (32, 33) ilgili olarak büyük bir ROT patlamasına yol açacaktır. ROT membran, lipid ve DNA gibi makromoleküllere zarar verecektir. Bununla birlikte, ROT patlaması ve yüksek mitokondriyal kalsiyum içeriği iç mitokondriyal membranda bir por oluşturarak mPTP açılmasını tetikleyecektir (17). Bu por, dış mitokondriyal membranda rüptürü indükleyecek olan şişmeye sebep olan su ve çözücünün (<1.5 kDa) mitokondriyal matrikse girmesine olanak sağlar (29). Bu rüptürle sitokrom C salınır ve pro-apoptotik kaspaz 3'ün aktive edildiği yer olan sitozola yayılır (18). mPTP'nin açılması ATP sentaz itici gücünü ortadan kaldırarak iç membranın her iki tarafındaki Na⁺ konsantrasyonunu eşitler (36).

Bir kez açıldığında mPTP bir dizi bağımsız ve fazlalık mekanizmalar yoluyla hızlı hücre ölümüne yol açar (apoptozis, nekroz ve otofaji). Apoptozis veya programlı hücre ölümü; ATP gerektirir ve yangıyı indüklemeksizin tam bir hücrel eliminasyona yol açarken, nekroz; hücrenin şişmesi, plazma membranının bozulması ve yangıya yol açan hücre içi komponentlerin sızdırılması tarafından düzenlenir (37). Otofaji ise hücre içi kümelerin ve organellerin toptan uzaklaştırılmasının

mekanizmasıdır ve besin kısıtlaması olan şartlar altında enerji üretici substratlar sağlar (38). İskemi sırasındaki otofaji aktivasyonu dokuyu koruyorken, reperfüzyondan sonra ise zararlı gibi gözükmemektedir (39). İ/R sonrası apoptozisin görülme oranı nekrozunkinden daha düşüktür ve post-iskemik hücrelerde görülen hücre ölümü yolağı onların reperfüzyon sonrasındaki enerji durumlarına bağlıymış gibi görünmektedir (40).



Şekil 4. İskemi ve Reperfüzyonun sonuçları şematize edilmiş hali (16).

1.3.3.İskemi/Reperfüzyon Hasarı

İskemi/reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi ile alakalı çok farklı faktörler öne sürülmüştür. Bunlar birbiriyle de yoğun şekilde bağlantılı olan bir dizi hücresel ve humoral olaylardır. Bunların bazıları aşağıdaki başlıklar altında belirtilmiştir.

1.3.3.1. Böbrek'te İskemi-Reperfüzyonun Hücresel ve Dokusal Bazda Etkileri

Daha öncede bahsedildiği üzere tüm hücreler hipoksik şartlara karşı bir yanıt verirler, fakat bu hücreler oksijen eksikliğine aynı derecede hassasiyete sahip değildirler. Bu yüzden İ/R'a karşı organa spesifik bir hassasiyet vardır (17). Bu durum ayrıca aynı organ içerisinde de geçerlidir. Bazı hücreler diğerlerine kıyasla hipoksiye karşı daha fazla dayanıklı olabilirler. Böbrek tübüler epitelyal hücrelerin çoklu tipleri, glomerüller hücreler ve intersitisyel hücreler gibi 26'dan fazla farklı tip hücreden oluşmuştur (41). Endotelyal hücrelerin farklı alt tiplerini kapsamadığından dolayı bu sayı azdır. İ/R hasarına karışan esas böbrek hücre tipleri endotelyal hücreler ve tübüler epitelyal hücrelerdir.

Endotelyal hücreler: Endotelyal hücreler bütün organ iskemi ve reperfüzyonu sırasında ki hasara maruz kalan ilk hücre tipidir, kısmi denüdasyonu (çıplaklaşma-aşınma) yol açar. Buna ilaveten İ/R vazokonstriksiyon ve yanında hipoksi tarafından düzenlenen vazoaktif genlerin ekspresyonu gibi bir dizi endotelyum-bağımlı etkilere sebep olur (42). Bu genlerin ekspresyonlarındaki modifikasyonlar organın iyileşmesini ve iskemi sonrasındaki sonuçları doğrudan etkiler.

Epitelyal hücreler: Renal parankimal oksijenizasyon en yüksek seviye korteks, orta seviye medulla ve en düşük seviye papillalar olarak derecelendirilmiştir (43). Sonuç olarak, her bir böbrek alanındaki epitelyal hücreler, onların kendi mikro ortamlarındaki oksijenizasyon seviyeside görevlerini yerine getirmek için en iyi şekilde uyum sağlarlar (42). Renal epitelyal hücrelerin laktat sentezleme kapasitesi bir sıçan nefronunda homojen değildir, laktat üretimi sadece distal segmentlerde yapılır, proksimal tübüllerde yapılmaz (44). Kortikal epitelyal hücreler esas olarak kısa ve uzun zincirli yağ asitlerinin, laktatın, ketonların ve aminoasitlerin O₂ bağımlı metabolizmalarını kullanırlar. Medulla'nın dış tarafındaki hücreler süksinatı metabolize ederler ve oksijen seviyesi düştüğü zaman bu hücreler O₂ bağımlı laktat ve glikoz metabolizmalarına geçişebilir (45). İç medulla ise ağırlıklı olarak anaerobik glikolizis yoluyla ATP üretmek için glikozu kullanır. Bu yüzden renal epitelyal hücrelerin iskemiye karşı hassasiyeti onların böbrek içerisindeki yerleşimlerine bağlıdır (42). Dış korteks yüksek bir O₂ rezervine sahiptir ve bu yüzden, eğer iskemi süresi kısa olursa bu bölgedeki hücreler nispeten korunur. Dış medullanın epitelyal

hücreleri ise hipoksi'ye en dayanıksız olanlardır çünkü bunlar normal böbrekte anoksi sınırında çalışırlar ve reabsorbsiyon görevlerini yerine getirebilmek için yüksek metabolik hızı sahiptirler (46). Papillar epitelyal hücreler esas olarak hipoksik bölgede bulunurlar ve bunlar kısa süreli iskemi sırasında anaerobik metabolizmayla yaşamlarını sürdürebilirler. Uzatılmış sıcak iskemi ile en nihayetinde tüm böbrek bölgeleri etkilenir.

1.3.3.2. İskemi Reperfüzyonun Organ Seviyesinde Etkileri

Üstte belirtildiği gibi, reperfüzyon tarafından takip edilen uzatılmış bir iskeminin tüm böbrek hücre tiplerinde apoptozis veya nekroz yoluyla kayba yol açacağı açıktır.

Bu hücreler baştaki temsillerini kaybederler. Eğer iskemi çok şiddetliyse, organ başlangıçtaki hasarı iyileştiremeyecektir. Fakat iskemi subletal ise başlangıçtaki hücre kaybı ABH'nın (akut böbrek hasarı) oluşumuna katılır fakat İ/R sonrası birkaç saat ile günler arasında değişebilen süreçte meydana gelen bazı hücresele olaylar ABH'nın şiddetini şartlandırarak ilk İ/R travmasını ve uzun vadeli sonuçları uzatır. İskemik ABH akut tübüler nekroz, azalmış glomerüler filtrasyon hızı ve artmış serum kreatinin veya sistatin C veya oligoüriyle alakalıdır (47). Buna artmış bir bazal renal vazküler ton, renal damarlaşmanın otoregülatör kabiliyetinde azalma, anormal renal vazküler aktivite ve tübüler obstrüksiyon ile alakalı olan glomerular filtrasyon basıncının aşırılığı tarafından eşlik edilir (48). Toplam renal kan akışı başlangıçtaki iskemik travmayı takiben %30-70 civarında azalır (49). Bu fonksiyon bozukluklarının altında yatan mekanizmalar aşağıda incelenmiştir.

Vasküler hasar: Vasküler hasarlar İ/R'nin hemodinamik sonuçlarında temel bir rol oynar. Apoptozis ve nekrozu indüklemesinin yanında, İ/R endotelyal hücrelerin şişmesine (kapillar lümenini daraltarak), glikokalikslerin kaybına, aktin hücre iskeletinin bozulmasına, endotelyal hücre-hücre temasının değişmesine ve artmış mikrovasküler permeabilityle intersitisyumdaki sıvı kaybına yol açarak perivasküler matriksin yıkılmasına sebep olur (50). Dahası, İ/R ayrıca yaşamaya devam eden hücrelerdeki çeşitli endotelyal kökenli proteinlerin seviyelerinin ekspresyonunda modifikasyonları indükler (51). Bilhassa İ/R, vazokonstriktör maddelerin endotelyal üretimini indükleyerek vazokonstriksiyonu destekler (platelet-derived büyüme

faktörü-B ve Endotelin-1) (51). Vazokonstriksiyon reperfüzyonda eNOS proteininin down-regülasyonu ve hasarlı endotel tarafından üretilen diğer vazodilatatör maddeler ile alakalı azalmış NO üretimi tarafından güçlendirilir (48). Dahası, arterioller iskemiden sonra Anjiyotensin II, Tromboksan A2, prostaglandin H2, Lökotrienler C4 ve D4 ve adenozin de dâhil endojen vazokonstriktörlere karşı artmış reaktivite gösterirler (52). İ/R ve azalmış endotelial NO üretimi endotelial plazma membranındaki adhezyon moleküllerini [intersellüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1), vasküler adhezyon molekülü-1 (VCAM-1) ve P- ve E- selektin gibi] indükleyerek endotelial hücreleri aktive edeceklerdir (53). Endotelial aktivasyon kapıllar konjesyonu ve geri akış yokluk fenomenini teşvik ederek plateletlerin ve polimorf çekirdekli nötrofillerin tutunmasını artırır (52). Bu vazomotor bozukluklar azalmış böbrek kan akışı ve glomerular filtrasyon hızından sorumlu olmalarının yanısıra epitelyal hücre hasarını artırarak böbreğin bazı bölgelerinde hipoksi süresinin uzamasından da sorumlulardır (45).

Epitelyal hasar: Renal İ/R, hücre iskeleti bütünlüğünün hızlı bir şekilde kaybı ve proksimal tübülün fırça sınırının dökülmesiyle epitelyal hücre polaritesi, adhezyon moleküllerinin yanlış lokalizasyonları (integrinler) ve sodyum/potasyum ATPaz gibi diğer membran proteinleri, apoptozis ve nekroz ile sonuçlanır (54). Bu değişiklikler lümeni tıkayarak ve intratübüler basıncı artırarak epitelyal hücre deskuamasyonunu (bazal membran maruz kalır) (54) ve dökülmelerin ortaya belirmesini (tübülde hücrel enkazın kümelenmeleri) teşvik eder. Her iki durumda filtratın geri sızmasına ve bozulmuş iyon reabsorbsiyonuna yol açar. Tübüler obstrüksiyon ayrıca reperfüzyona bağlı GFH'nin azalmasına da müdahil olacaktır. Bunun yanında hasarlı proksimal tübüller makula densesinin distal nefrondaki yükselmiş çözücü seviyesini hassaslaştırmasına ve tübülo-glomerüler geri beslemeyi tetiklemesine sebep olarak sodyumu düzgün şekilde reabsorbe edemeyecektir (55). Muhtemelen bu geri besleme GFH'yi azaltmaktan öte pre-glomerüler arteriyel konstriksiyonu destekler (45).

Yangı/ immun sistem: Steril yangı, hem doğal hem kazanılmış immun sistem ve kompleman aktivasyonu İ/R hasarına müdahil olur (56). Kısaca vasküler ve epitelyal hasarlar hücre nekrozundan sonra intrasellüler faktörlerin salınımına bağlı olan yangıyı tetikler (57). Vasküler hasar ayrıca endotelial hücre aktivasyonuna ve lökositlerin toplanmasına karışırken, epitelyal hasar doğal bağışıklık sistemini aktive

ederek epitelyal hücrelerin pro-inflamatuvar ve kemotaktik sitokinleri (TNF α , IL β 1, IL6, IL8...) salmasına müdahil olur (57) . Doğal bağışıklık sisteminin aktivasyonu non antijenik spesifik bir durumda İ/R hasarına verilen erken yanıttan sorumludur. Gerçekten de nötrofiller, monositler/makrofajlar, dendridik hücreler ve T hücreleri iskemik akut böbrek hasarının ve tamiratının önemli destekleyicileridir. Endotelyuma yapışmış nötrofiller tarafından proteazlar, myeloperoksidaz, reaktif oksijen türleri ve sitokinler üretilmektedir ki bu durum, vasküler permeabilityi artırmanın yanında tübüler epitelyal ve endotelyal bütünlüğü azaltmak suretiyle böbrek hasarının artışına sebep olacaktır (58).

Koagülasyon: Endotelyal hücre aktivasyonu trombosit aggregasyonunu ve koagülasyon basamaklarının aktivasyonuna ve yangıya yol açacak aktivasyonu destekler (59). Koagülasyon basamakları süreciyle sıkı bir şekilde bağlantılıdır. Özellikle iskemi sırasında hasar görmüş vazküler alan tarafından anormal doku faktörünün (TF) ekspresyonu aktif trombinin (Faktör IIa) üretiminden sorumludur. Trombin, koagülasyon basamaklarındaki rolüne ilaveten hücrel süreçler üzerine de direk etkiye sahiptir. Aktif trombin kalsiyum homeostazisini ve de glomerüler epitelyal hücrelerden pro-fibrotik faktörlerin ekspresyonunu düzenler (60). Trombin ayrıca vasküler permeabilityi artırarak ve monositler/makrofajlar, endotelyal hücreler ve nötrofillerin aktivasyonunu destekleyerek parankimdeki yangı hücrelerinin retensiyonunu destekler. Trombin, Xa ve VIIa faktörleri pro-inflamatuvar ve pro-fibrotik faktörleri indükleyen proteaz aktif reseptörlerin (PAR) aktivatörleridirler (61,62). PAR aktivasyonu vazokonstriksiyon ve glomerular filtrasyon oranında azalmayla bağlantılandırılmıştır (63). Koagülasyon basamaklarının inhibisyonunun kalp (64, 65), akciğerler (66) ve böbrekte (67, 68) iskemi reperfüzyon sonrası faydalı olduğu rapor edilmiştir. Yapılan pek çok çalışma farklı anti-koagülant özellikteki maddelerin İ/R hasarı üzerinde zayıflatıcı, iyileştirici etkisi olduğunu ortaya koymuştur (64,69).

1.3.3.3. Hasarın Tespitinde Kullanılan Bazı Yöntemler

İ/R hasarından sonra böbrekte olan patolojik değişikliklerin tespitinde ve şiddetinin belirlenmesinde farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan bazıları aşağıda sıralanmıştır. Böbrek fonksiyon analizleri: Genellikle böbrek fonksiyon

analizleri BUN(Blood urea nitrogen/ kan üre nitrojen) ve CR (creatinin/kreatinin) seviyeleri incelenerek yapılır.

Histopatolojik değerlendirmeler: Farklı boyalar kullanılarak hazırlanan preparatlar tübüler nekrozun derecesi, hemoraji, kast oluşumu, endotelyal ve epitelyal hasar, vasküler hasar, yangı hücrelerinin infiltrasyonu ve koagülsayon gibi pek çok parametre ile değerlendirilmektedir. Bunun dışında bazı özel yöntemlerle boyanan preparatlar ‘apoptozis’ bakımından da incelenerek hasarın şiddeti ve oluşturduğu etki belirlenebilmektedir.

Reaktif oksijen türlerinin (ROT) seviyelerinin ölçümü: MDA, GSH-Px ve Katalaz aktiviteleri ölçülerek ROT üretiminin seviyesi hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir. Tüm bunların dışında gen susturulması yöntemleri ile tasarlanan çalışmalarda ilgili genin ekspresyonunun ölçümüne izin veren analizler (Örneğin: western blot) aracılığı ile de ölçümler yapılabilmektedir.

Böbrekte de diğer organlarda olduğu gibi iskemi/reperfüzyon hasarının bazı noktaları halen tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Hasarın önlenmesine ve tedavisine yönelik farklı yaklaşımlar elde etmeyi amaçlayan çalışmalar halen devam etmektedir. Günümüzde halen ‘antioksidanlar’ İ/R hasarına karşı kullanılan en etkili yöntemlerdir. Endojen ve eksojen pek çok kaynağı olan, farklı çaylardan meyve-sebzelere kadar birçok besinin içerisinde bolca bulunan bu antioksidanlar ROT’un oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarı önleyerek detoksifikasyonu sağlarken genellikle şu dört yolla etkilerini göstermektedirler.

1. Süpürücü mekanizma; ROT üzerine etki edilerek onların bağlanıp tutulması ve/veya yok edilmesine bağlı mekanizmadır. Genellikle antioksidan enzimleri ve küçük moleküllerin etki mekanizmasıdır (70, 71).

2. ROT inaktivasyonu; etkileşim sonrası ROT’e bir “hidrojen” ilavesiyle onların aktifliklerinin düşürülmesi veya “inaktif” hale dönüştürülmesi mekanizmasıdır. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptir (72).

3. ROT’u bağlayarak zincirlerinin kırılması ve fonksiyonları üzerine engelleyici etkinin ortaya çıkmasına dayalı mekanizmadır. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller bu şekilde etki gösterirler (73).

4. Serbest radikallerin ortaya çıkardığı hasarın tamiri şeklinde bir telafi etkisi gösterirler (73).

1.4. Oksidan Sistem

Normal fizyolojik koşullarda, hücrelerde sürekli oluşan reaktif oksijen türleri (ROT) ile onlarla etkileşime geçen antioksidanlar arasında bir denge vardır. Bu dengenin ROT lehine bozulması yani hücrede süperoksit radikallerinin birikmesi ya da endojen savunma sistemlerinin yetersiz kalması oksidatif stres olarak tanımlanır (74). Serbest radikaller organizmada moleküler düzeyde birçok etkiye neden olur. ROT'da artış hücre için toksiktir ve hücrede proteinleri, lipidleri ve nükleik asitleri hasara uğratarak hücre içi sinyal yollarını bozar (75).

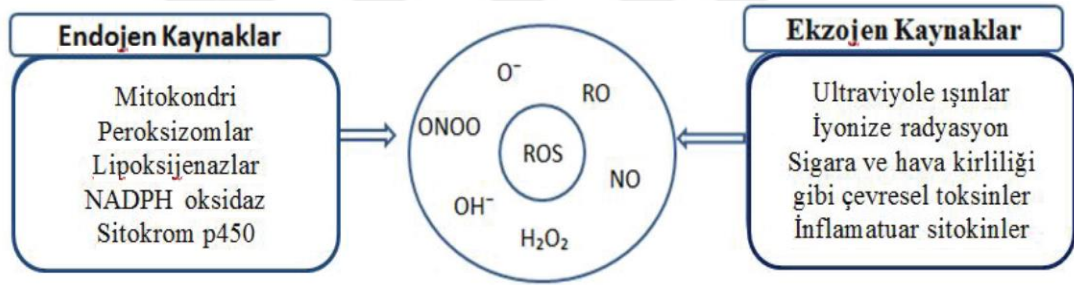
Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron içeren moleküler yapılar olarak tanımlanır. Bu moleküller oksijenin kısmen indirgenmesi sonucu oluşan kısa ömürlü ve güçlü oksidan özellikte oksijen metabolitleridir. Bu serbest oksijen radikalleri başka bir radikalle veya radikal olmayan bir ajanla birleşir. Böylece organizmada moleküler düzeyde birçok biyolojik etkiye neden olur. Ekzojen ve endojen serbest radikallerin oluşumu engellenemez (76). Hem metabolik süreçler (hücre solunum) hem de çevresel oksidanların (ilaç toksisitesi, sigara dumanı, ultraviyole radyasyon, hava kirliliği, yoğun fiziksel aktivite ve alkol gibi) etkisi ile sürekli olarak üretilir (77, 78) (Şekil 5).

Serbest radikaller hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları ile kolayca reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu meydana getirir. Lipid peroksidasyonu yağ asidi zincirlerinden hidrojen atomlarının koparılması sonucunda yağ asidi zincirinin bir lipid radikali özelliği kazanması ile başlar. Lipid radikali daha sonra bir dizi değişikliğe uğrar. Lipid radikallerinin moleküler oksijenle reaksiyona girmesi sonucu lipid peroksit radikalleri oluşur. Lipit peroksid radikalleri membran yapısındaki diğer yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikalleri oluşumuna neden olur. Bu reaksiyonda açığa çıkan hidrojeni lipid peroksit bağlayarak lipidperoksitlerine dönüştürler. Böylece zincirleme bir reaksiyon başlamış olur. Lipid peroksitler yıkıldığında açığa çıkan yıkım ürünleri (acrolein, malondialdehit, 4-hidroksinonenal) biyolojik olarak aktiftir. Bunlar ya hücrede metabolize edilir ya da hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayar (79, 80).

Malondialdehit (MDA), çoklu doymamış yağ asidi peroksidasyonunun ana ve en çok çalışılan ürünüdür. MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik yada kantitatif bir göstergesi olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon

gösterir. İn vivo ve in vitro olarak oksidatif stres seviyesini ölçmek için 1960’lardan bu yana bu molekül değerlendirilmiş ve birkaç yöntem geliştirilmiştir (81).

MDA, araşidonik asidin ve daha büyük çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) enzimatik veya enzimatik olmayan yolla ayrışması sonucu oluşan son üründür. Enzimatik süreçlerle MDA üretimi iyi bilinmektedir. Fakat MDA kimyasal olarak kararlı, ROT’a göre membrandan daha kolay geçebilen, 4-HNE (4-hydroxynonenal) ve metil-glikoaldan daha az toksik olmasına rağmen, MDA’nın biyolojik fonksiyonları ve muhtemel doza bağlı rolü araştırılmamıştır (82). Bazı çalışmalar MDA’nın gen ekspresyonunu düzenleyici ve haberci olarak çalıştığını göstermiştir (83, 84). Öte yandan, enzimatik olmayan işlemlerle MDA üretimi, potansiyel terapötik değerlerine rağmen yeterince anlaşılmamıştır. Çünkü bu ürünün proteinlerin veya DNA gibi çoklu biyomoleküller ile reaksiyona girme kabiliyeti yüksektir (85).



Şekil 5 . Reaktif Oksijen Türlerinin Kaynakları (77,78)

1.5. Antioksidan Sistem

Hücrede lipit, protein ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin serbest radikaller tarafından oksidasyonunu önleyebilen veya geciktirebilen maddelere antioksidan, bu mekanizmalara ise antioksidan savunma sistemleri denir. Antioksidanlar serbest radikallere elektron transferi yaparak hücresel düzeydeki hasarı engellemektedir. Antioksidanların dört farklı mekanizması vardır. Temizleme etkisi; serbest oksijen radikallerini etkileyerek onların tutulması ya da oksidanları daha zayıf bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla etki eder. Baskılama etkisi; Oksidanlara bir hidrojen aktararak onları etkisiz hale getirme ya da etkilerinin veya reaksiyon hızlarının azaltılması. Vitaminler ve flavonoidler ise etkilerini bu yolla gösterirler. Onarma

etkisi; serbest radikallerin lipiti protein ve DNA gibi yapılarda oluşturdıkları biyolojik hasarın onarılması. Zincir koparma etkisi; serbest oksijen radikallerini bağlayarak, zincirlerini kırıp işlevlerinin engellenmesi (86) .

Antioksidanların bir kısmını vücut diyetle alırken (enzimatik olmayan) bir kısmını kendisi hücresel düzeyde (enzimatik olarak) üretir. Vücudun serbest radikallere karşı ürettiği birinci basamak antioksidanlar (enzimatik); katalaz, süperoksit dizmutaz ve glutatyon peroksidazdır (87). Sağlık açısından önemli enzimatik olmayan antioksidanlar vardır. Bunlar; A, E ve C vitaminleri, sebze, meyve, baharat, tahıllarda yaygın olarak bulunan fenolik maddeler, resveratrol (88) ile kuersetin (89) ve kateşin (90) gibi flavonoidlerdir. Normal fizyolojik koşullarda bu antioksidanların hücre içi seviyeleri ve aktiviteleri arasında denge vardır. Birçok çalışma, enzimatik antioksidanların (SOD, CAT, GPx) ve enzimatik olmayan antioksidanların (C Vitamini, E Vitamini, karotenoidler, lipoik asit ve diğerleri) oksidatif strese karşı korunmasında çeşitli rolleri olduğunu gösterdi (9, 92).

Oksidatif stresin genel bir tanımı, prooksidan-antioksidan dengesinin prooksidan yönüne kayması sonucu potansiyel hücresel hasarlara yol açması durumudur . Bununla birlikte, oksidatif stres durumunun ölçümü, düzeltme ve onarımı yapan kompleks endojen savunma sistemlerin olmasından dolayı zor olabilir. Oksidatif stres, serbest radikal üretiminin artışı ve antioksidan savunmanın azalması sonucu olabilir. Bu nedenle, oksidatif stres biyobelirteci olarak antioksidan tüketiminin araştırılması antioksidan miktarlarındaki azalış veya onların metabolitlerindeki artışın değerlendirilmesi ile olabilir. Farklı antioksidanların serum veya plazma konsantrasyonları laboratuvarlarda ayrı ayrı ölçülebilir. Fakat bu ölçümleri yapmak zaman alıcı, yoğun iş yükü, pahalı ve komplike teknikleri gerektirir. Farklı antioksidan moleküllerini ayrı ayrı ölçmek antioksidan etkileri aditif (binişik) olduğu için pratik değildir. Bu nedenle total antioksidan kapasite (total antioxidant capacity= TAC) veya total antioksidan durum (total antioxidant status=TAS) ölçümü yapılması en çok kabul gören yöntemdir.

1.6. Hücre Zarının Yapısı ve Hücre Zarı Kanalları

Hücre zarı 7,5-10 nanometre kalınlığında, ince, kıvrılabilir ve elastik yapıda hücreyi saran bir yapıdır. Tamamen lipid ve proteinlerden oluşmuştur. Bileşimi yaklaşık %55 protein, %25 fosfolipit, %13 kolesterol, %4 diğer lipidler, ve %3 karbonhidratlardır. Çift katlı lipid yapısı olan hücre zarının arasına büyük globüler proteinler serpiştirilmiştir. Hücre zarını oluşturan lipidler fosfolipitler, sfingolipitler ve kolesteroldür. Hücre zarı proteinleri iki tiptir bunlar zarı boydan boya geçenler (integral proteinler) ve geçmeyenler yani periferik proteinlerdir. İntegral proteinler çoğu su moleküllerinin ve suda eriyen maddelerin özellikle iyonların hücre dışı ve hücre içi sıvı arasında diffüze olmalarını sağlayan kanallardan oluşur. Bu kanallar bazı maddelerin diğerlerine oranla farklı oranda difüzyonunu sağlarlar (14).

1.6.1. Transient Reseptör Potansiyel Kanalları

Transient Reseptör Potansiyel (TRP) proteini ilk kez 1969 tarihinde uzun süre ışığa maruz bırakılmış ve buna bağlı olarak görme bozukluğu oluşan *Drosophila melanogaster*' in mutan suşunda keşfedilmiştir (93).

Transient Reseptör Potansiyel (TRP) proteinleri katyon kanallarının büyük ailesini temsil etmektedir. TRP kanalları, sodyum (Na^+), kalsiyum(Ca^{+2}) ve magnezyum (Mg^{+2})'a geçirgen olup nonselektif katyon kanallarıdır (94). TRP kanalları, böbrekte kalsiyum-magnezyum iletimi, kan basıncının regülasyonu, tat, koku ve sesin algılanması, gen ekspresyonu ve apoptozis gibi önemli hücresel süreçlerde ve iyon giriş çıkışı gibi birçok mekanizma da rol oynamaktadır (95, 96). Ek olarak, TRP kanalları, tek tek hücrelerin yerel ortamlarındaki değişiklikleri algılamasını sağlar. Birçok TRP kanalı, çeşitli farklı uyaranlar tarafından etkinleştirilir ve sinyal entegratörleri olarak işlev görür.

TRP üst ailesi yedi alt aileye bölünmüştür: beş grup 1 TRP (TRPC, TRPV, TRPM, TRPN, ve TRPA) ve iki grup 2 alt ailesi (TRPP ve TRPML) (97). TRP kanallarına ilişkin son çalışmalar, bunların çok sayıda temel hücre fonksiyonunda yer aldıklarını ve birçok hastalığın patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığının kabul edildiğini göstermektedir. Birçok TRP böbrekte nefronun farklı kısımları boyunca eksprese edilir ve artan kanıtlar, bu kanalların kalıtsal ve edinilmiş böbrek bozukluklarında rol oynadığını göstermektedir (98).

1.6.1.1 Transient Reseptör Potansiyel Melastatin-2 (TRPM2)

TRPM alt ailesi, C-terminalindeki sarmal bobinin homoloji dizisine dayalı olarak TRPM1/TRPM3, TRPM2/TRPM8, TRPM4/TRPM5 ve TRPM6/TRPM7 olmak üzere dört çift gruba ayrılır (99). TRPM alt ailesi, hücresel proliferasyon, sıcaklık algılama, vasküler gelişim, nörolojik hastalıklar, kanser progresyonu, endotel disfonksiyonu dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde yer aldığı için son yıllarda büyük ilgi görmüştür (100).

TRPM2, hematopoietik, endotelial ve böbrek hücreleri dahil olmak üzere birçok hücre tipinde eksprese edilmiş (9). TRPM2'nin çeşitli in vitro ortamlarda hücre proliferasyonu ve oksidan kaynaklı hücre ölümünde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (9). Birkaç TRP kanalı böbrekte eksprese edilirken ve polikistik böbrek hastalığı ve fokal segmental glomerüloskleroz gibi hastalık durumlarında yer alırken TRPM2'nin böbrek fizyolojisi veya patofizyolojisindeki rolü henüz tam olarak bilinmemektedir (9).

TRPM2 kalsiyum, potasyum ve sodyuma karşı geçirgendir ve oksidan stres, ADP-riboz (ADPR), TNF- α ve hücre içi kalsiyum tarafından aktive edilir . Bu uyarıların her biri böbrek iskemisi sırasında artırdığı tespit edilmiştir (9).

Yapılan bir çalışmada, seçilmiş TRPM2 delesyonu olan farelerin iskekiye bağlı akut böbrek hasarından korunduğunu bulunmuş. Benzer şekilde, TRPM2'nin farmakolojik inhibisyonu böbrek iskemik hasarını azalttığı gözlenmiştir (9).

TRPM2, hematopoietik hücreler de dahil olmak üzere diğer hücre tiplerinde eksprese edilir (101). TRPM2'nin nötrofillerin, monositlerin ve dendritik hücrelerin iltihaplanmaya tepkisini etkilediği bildirilmiştir (101).

Biz bu çalışmamızda dexmedetomidinin hem böbrek dokusundan hemde serum örneğinden TRPM2 ekspresyonunu çalışarak iskeki reperfüzyon hasarı sonrası dexmedetomidinin akut böbrek hasarında doku ve serum üzerine etkisini incelemeyi amaçladık.

1.6.1.2. Transient Reseptör Potansiyel Ankirin-1 (TRPA1)

TRPA1, memelilerdeki TRPA alt grubunun tek üyesidir. TRPA'daki "A", bu kanal proteininin N-terminal alanında 33 amino asitlik bir motiftan oluşan "ankirin" tekrarlarını temsil eder. Bu tekrarlar birçok protein içinde yer alır ve protein-protein

etkileşimlerinde işlev görür; ancak TRPA1'deki bu tekrarların diğer proteinlerle etkileşime aracılık edip etmediği belirsizliğini koruyor. Elektrofil etkisi ve yapısal olarak korunan kalsiyum kontrol bölgesi üzerine TRPA1 kapılarının iki aşamalı mekanizması, kriyo-EM teknolojisi kullanılarak tanımlandı (102).

TRPA1, ağrıya ve inflamasyona neden olabilen çok çeşitli ekzojen iritan maddeler tarafından güçlü bir şekilde aktive edilebildiğinden çok ilginç bir terapötik hedeftir. İzofluran veya lidokain gibi yaygın anestezikler de TRPA1'i aktive eder (103) (104).

TRPA1, reaktif oksijen türleri gibi endojen inflamatuvar ajanlar tarafından hedeflenir. Doku hasarına yanıt olarak hücreler, daha sonra lipid oksidasyonuna neden olan ROT'u serbest bırakır. 4-hidroksinonenal ve 4-oksononenal dahil olmak üzere reaktif karbonil türlerinin oluşumu TRPA1'i doğrudan uyarır (105).

Yayınlanmış çalışmalarda TRPA1'in böbrek hastalığındaki rolü, TRPA1'in nöronal olmayan hücrelerdeki rolüne odaklanmıştır. Zhu ve ark. yaptığı çalışmada TRPA1'in sepsis kaynaklı böbrek hasarını önlediğini ve farelerde sağkalımı iyileştirdiğini göstermiş (11). Ma ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TRPA1 nakavtının, makrofaj aracılı inflamasyon mekanizması yoluyla farelerde anjiyotensin II (Ang-II) kaynaklı böbrek hasarını şiddetlendirdiğini göstermiş (12). Ayrıca TRPA1 nakavtının farelerde renal iskemi-reperfüzyon hasarını şiddetlendirdiğini de göstermiştir. Wu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada in vivo renal İ/R'nin vahşi tip farelerde tübüler TRPA1 ekspresyonunu arttırdığını ve in vitro hipoksi-reoksijenasyonun renal tübüler hücrelerde TRPA1 ekspresyonunu arttırdığını göstermiştir (106).

Biz bu çalışmamızda dexmedetomidinin hem böbrek dokusundan hemde serum örneğinden TRPA1 ekspresyonunu çalışarak iskemi reperfüzyon hasarı sonrası dexmedetomidinin akut böbrek hasarında doku ve serum üzerine etkisini incelemeyi amaçladık.

1.7. Dexmedetomidin

Deksmedetomidin(DEX), seçici ve güçlü (alfa-2:alfa-1 spesifiklik oranı1600:1) bir alfa-2 adrenerjik reseptör agonistidir. ABD Gıda ve İlaç İdaresi 1999 yılında yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) yatan hastaların sedasyonu için kullanım

onayı almıştır. Presinaptik sempatik sinir uçlarından noradrenalin salınmasını azaltarak sempatotik etki gösterir. Alfa-2 selektivitesi hayvanlarda düşük ve orta dozların (10-300 mikrogram/kg) yavaş intravenöz infüzyonu sonrasında gözlenmiştir. Deksmetomidin 24 saati aşmayan sürelerde ilk bolus dozu (1 mcg/kg) takiben infüzyon (0,2-0,7 mcg/kg/st) şeklinde intravenöz olarak uygulanır. Dexmedotimidinin uzun süreli kullanımı (24 saati aşan) reseptörlerin süper duyarlılığına ve sayıların artmasına (upregulation) yol açar; bu ilacın ani kesilmesiyle hipertansiyon krizini içine alan bir akut çekilme sendromuna oluşabilir (107).

Kardiyovasküler etkiler doza bağlıdır; daha düşük infüzyon oranlarında santral etkiler baskın olarak kalp atım hızı ve kan basıncında azalmaya neden olabilir. Deksmetomidin hemen hemen tamamı biyotransforme olup idrar ve feçeste çok az miktarda değişmemiş deksmedetomidin olarak atılır. Biyotransformasyon doğrudan glukuronidasyonun yanı sıra sitokrom P450 aracılı metabolizma da içermektedir. Deksmetomidinin terminal yarı ömrü ($t_{1/2}$) yaklaşık 2 saattir ve klirensin yaklaşık 39 L/saat olduğu tahmin edilmektedir.

Deksmetomidin, çeşitli organlarda iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarı için koruyucu bir ajan olarak kullanım dahil olmak üzere diğer olası uygulamaları bildiren artan sayıda araştırma makalesi ortaya çıkmıştır. Postanestezi bakım ünitesinde ve nörolojik YBÜ'deki hastalar için sedatif tedavinin ana hedefi, anksiyoliz ve analjezi sağlamaktır (108). Bu nedenle, alfa-2 adrenerjik agonistlerinin kullanımı, nöroanestezide yaygın olarak kabul edilmektedir. Artan katekolamin ve diğer stres hormonlarının neden olduğu ek kardiyorespiratuar iş yükünden ve metabolik değişikliklerden kaçınmak açısından uygun hastalara sedasyon için faydalıdır.

DEX, kimyasal kanalların kolaylaştırılması yoluyla ve genetik düzenlemeyi modüle ederek, nörotransmitter salınımı, insülin salınımı, vazokonstriksiyon, böbrekten sodyum geri Emilimi ve bağırsaktan klorür salınımı dahil olmak üzere bir dizi fizyolojik işlevi düzenler (109).

DEX, lokus seruleus nöronlarının hücre zarı üzerindeki alfa-2 adrenerjik reseptörlere bağlanır ve G proteinine bağlı içe bakan düzenleyici potasyum kanallarının açılmasına yol açarak zarın hiperpolarizasyonuna neden olur (110). DEX, bu hiperpolarizasyonla aktive olan akımı baskılayarak paraventriküler çekirdeğin

parvosellüler nöronlarını inhibisyonu ile paraventriküler çekirdekdeki magnosellüler nöronları inhibe eder (111).

DEX ayrıca renal vasküler direnci azaltarak glomerüler filtrasyon hızını ve filtrasyon fraksiyonunu arttırdığı, böylece olası iskeminin histopatolojik değişiklikleri engellediği gösterilmiştir (112). Bu bulgular, DEX'in İ/R'nin neden olduğu böbrek hasarına karşı koruduğu hipotezini desteklemektedir.



2. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 26.11.2013 tarih ve 425863 Sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) biriminde ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarında yapıldı. Çalışma bütçesinin tamamı Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP)'nin TF.21.09 proje no'lu kararı gereğince karşılandı.

2.1 Deney Hayvanları Ve Beslenmeleri

Deneylerde kullanılan 35 adet 8-10 haftalık erişkin Wistar albino cinsi erkek sıçanlar, FÜDAM biriminden temin edildi. Hayvanlar FÜDAM hayvan laboratuvarında bulundukları ortamın sıcaklığı 22–25°C arasında sabit tutularak 12 saat ışık (07:00-19:00) ve 12 saat (19:00- 07:00) karanlıkta takip edildi. Sıçanlar özel olarak yaptırılan kafeslerde beslendi ve her gün altları temizlendi. Tüm hayvanlara aynı standart sıçan yemi verilerek add libitum su ve yiyecek alımları sağlandı. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Hayvan yemleri Elazığ Yem Sanayi A.Ş. Yem Fabrikası'nda hazırlandı. Yemlerin terkibi Tablo 1'de gösterildi.

Tablo 1. Deney Hayvanlarına Verilen Sıçan Yeminin Terkibi

Sıçan Yeminin Terkibi	%
Buğday	15
Mısır	10
Arpa	27
Kepek	8
Soya	29,4
Balık Unu	8
Tuz	0,6
Kavimix VM 23-Z*	0,2
Methionin	0,2
DCP **	1,6

* 1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0,8 mg K₃, 0,8 mg B₁, 2,4 mg B₂, 1,2 mg B₆, 0,006 mg B₁₂ vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3,2 mg Cal. D. Panth. 0,32 mg Folic acid, 0,02 mg D-Biotin, 50 mg Cholin Chloride, 20 mg Zinc Bacitracin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0,06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca.** % 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0,2 flor'dan oluşur

2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Ağırlıkları 200-230 gr arasında değişen 8-10 haftalık 35 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar her grupta 7 adet olacak şekilde 5 gruba ayrıldı.

Grup I (Kontrol grubu); Deney süresince herhangi bir işlem yapılmadı.

Grup II (Sham grubu); Bu gruptaki sıçanlar supine pozisyonda sabitlenenip batın orta hatta cerrahi sterilite korunarak basit bir insizyonla batın açıldı. Sağ böreğin vizüalisasyonunu engelleyen batın içi yapılar batın dışına alındı. Sağ renal pedinkül 3-0 ipek ile klemplenip kanama kontrolü sağlandıktan sonra sağ nefrektomi işlemi yapıldı. Sol böbrek pedinkülü ortaya çıkarıldıktan sonra herhangi bir iskemi protokolü uygulanmayıp sol böbrek dokusu ve diyaframdan yaklaşılarak intrakardiyak ponksiyon ile serum örneği alınarak denekler dekapite edildi.

Grup III (DEX grubu); Bu gruptaki sıçanlar supine pozisyonda sabitlenenip batın orta hatttan cerrahi sterilite korunarak basit bir insizyonla batın açıldı. Sağ böreğin vizüalisasyonunu engelleyen batın içi yapılar batın dışına alındı. Sağ renal pedinkül 3-0 ipek ile klemplenip kanama kontrolü sağlandıktan sonra sağ nefrektomi işlemi yapıldı. Sol böbrek pedinkülü ortaya çıkarıldıktan sonra herhangi bir iskemi protokolü uygulanmayıp deksmedetomidin hidroklorür 100 µg / kg intraperitoneal uygulanarak batın 3-0 ipek ile batın kapatıldı. Batın 45 dakika sonra tekrar açılarak sol böbrek dokusu ve diyaframdan yaklaşılarak intrakardiyak ponksiyon ile serum örneği alınarak denekler dekapite edildi.

Grup IV(İskemi/reperfüzyon grubu,İ/R4); Bu gruptaki sıçanlar supine pozisyonda sabitlenenip batın orta hatta cerrahi sterilite korunarak basit bir insizyonla batın açıldı. Sağ böreğin vizüalisasyonunu engelleyen batın içi yapılar batın dışına alındı. Sağ renal pedinkül 3-0 ipek ile klemplenip kanama kontrolü sağlandıktan sonra sağ nefrektomi işlemi yapıldı. Sol böbrek pedinkülü ortaya çıkarıldıktan sonra sol renal arter ve vene klemp uygulandı. Batın 3-0 ipek ile kapatılarak iskemi protokolü uygulandı. Batın 30 dakika sonra açılarak renal klempler açılarak denekler reperfüzyona tabi tutuldu. Batın tekrar 3-0 ipek ile kapatılarak 45 dakika sonra batın açılıp sol böbrek dokusu ve diyaframdan yaklaşılarak intrakardiyak ponksiyon ile serum örneği alınarak denekler dekapite edildi.

Grup V (İ/R+Dexmedotimidin(İ/R5)); Bu gruptaki sıçanlar supine pozisyonda sabitlenenip batın orta hatta cerrahi sterilite korunarak basit bir insizyonla batın açıldı.

Batın içi bağırsaklar batın dışına alınarak önce sağ renal pedinkül 3-0 ipek ile klemplenip kanama kontrolü sağlanıp sağ nefrektomi işlemi yapıldı. Sol böbrek pedinkülü ortaya çıkarıldıktan sonra sol renal arter ve vene klemp uygulandı. Batın 3-0 ipek ile kapatılarak iskemi protokolü uygulandı. Batın 30 dakika sonra açılarak renal klemler açılarak denekler reperfüzyona tabi tutuldu. Bu süre zarfında deneklere deksmedetomidin hidroklorür 100 µg / kg intraperitoneal olarak uygulandı. Batın tekrar 3-0 ipek ile kapatılarak 45 dakika sonra batın açılıp sol böbrek dokusu ve diyaframdan yaklaşılarak intrakardiyak ponksiyon ile serum örneği alınarak denekler dekapite edildi.

2.3. Doku Örneklerinin Alınması

Deneyin sonunda tüm gruptaki sıçanlar ketamin (75mg/kg) + xylazine (10mg/kg) i.p uygulanarak anestezi altında dekapite edildi. Dekapitasyonun ardından sıçanların böbrek dokuları hızla çıkarıldı. Serum örnekleri de diyaframdan yaklaşılarak intrakardiyak alındı. Böbrek dokuları TRPM2 ve TRPA1 ekspresyonu ve oksidan, antioksidan düzeyleri için çalışmanın sonuna kadar – 80°C de saklandı. Histolojik çalışma için her gruptan alınan böbrek dokuları formol solüsyonunda tespit edildikten sonra rutin histolojik takip serilerinden (Tablo 4) geçirilerek dehidrate edildi. Dokular daha sonra ksilolde parlatılıp parafin bloklara gömüldü.

2.4. Biyokimyasal Çalışma

Serum örneklerinde TAS, TOS, TRPM2 ve TRPA1 (sırasıyla) (AD3283Ra (AndyGene Biotechnology Co., Ltd., Beijing, CHINA), AD3282Ra (AndyGene Biotechnology Co., Ltd., Beijing, CHINA), (Rat TRPM2 ELISA kit, SunRed 201-11-6173, China) ve (Rat TRPA1 ELISA kit, SunRed 201-11-6652, China) düzeylerinin tespiti için ELISA yöntemi ile üretici firmanın kit kataloglarında verilen çalışma prosedürüne uygun biçimde analiz edilmiştir.

2.5. İmmünohistokimyasal Çalışma

Parafin bloklardan 4–6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH:6'da mikrodalga fırında (750W) 15 dakika kaynatıldı. Kaynatma sonrası oda ısısında yaklaşık 20 dakika soğutmak için

bekletilen dokular PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, USA) ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksid blok solusyonu ile 5 dakika inkübe edildi (Hydrogen Peroxide Block , TA-125-HP, Lab Vision Corporation, USA). PBS ile 3x5 dakika yıkanana dokulara zemin boyasını engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu uygulandıktan sonra 1/200 oranında dilue edilen TRPA1 ve TRPM2 primer antikörler (Anti-TRPA1 antibody, FNab09013, Finetest China ve Rabbit Anti-TRPM2 antibody, ab101738, Abcam, Cambridge, UK) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, primer antikör uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra sekonder antikör (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse / rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, Sekonder antikör uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkanıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate + AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, Lab Vision Corporation, USA) solusyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak PBS ile yıkamaya alındı. Mayer's hematoksilen ile zıt boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solusyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı.

Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı (Leica DFC295).

Boyamada immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1: <%25, 0.4:%26-50, 0.6:%51-75, 0.9:%76-100) ve şiddeti (0:yok, +0.5: çok az, +1:az, +2: orta, +3:şiddetli) esas alınarak histoskor oluşturuldu. Histoskor= yaygınlık x şiddet

2.6. TUNEL Çalışması

Parafin bloklardan 4-6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi. Xylene ile deparafinize edilen dokular, dereceli alkol serilerinden

geçirilerek phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandı. 0.05% 'lik proteinase K ile 10 dakika inkübe edilen dokular, endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için % 3 hydrogen peroxide ile 5 dakika inkübe edildi. PBS ile dokular yıkandıktan sonra, 6 dakika Equilibration Buffer ile inkübe edilip, 37° C' de nemli ortamda çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme) ile 60 dakika inkübe edildi. Stop/Wash Buffer da 10 dakika bekletilen dokular, Anti-Digoxigenin-Perosidaz ile 30 dakika muamele edildi. Diaminobenzidine (DAB) substratı ile apoptotik hücreler görüntülendi. Harris hematoksilen ile zıt boyası yapılan kesitler uygun kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı (Leica DFC295). TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 10'luk büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik en az 500 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücrelere oranlanması ile Apoptotik indeks (AI)'i hesaplanarak istatistiksel analizleri yapıldı.

2.7. İstatistiksel Analizler

Bu çalışmada elde edilen tüm verilerin istatistiksel açıdan değerlendirilmesinde SPSS 22.0 paket program kullanıldı. Sayısal veriler median (minimum–maksimum) olarak ifade edildi. Değişkenlerin normal dağılıp dağılmadığını incelemek için shapiro–wilk testi kullanıldı. İki den fazla grup arasında genel karşılaştırmada Kruskal Wallis testi kullanıldı. İkili gruplar arasındaki karşılaştırmada Kruskal Wallis'ten sonra post-hoc Dunn testi kullanıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Biyokimyasal Bulgular

3.1.1. Serum Total Oksidan Status (TOS) Düzeyleri

Tüm gruplara ait serum TOS düzeylerinin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Sham ve Deksmetomidin (DEX) gruplarında (sırasıyla; $p=0.805$, $p=0.840$) TOS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, İ/R4 grubunda TOS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p=0.011$). İ/R4 grubu ile karşılaştırıldığında ise İ/R+Dexmedotimidin (İ/R5) grubunda TOS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p=0.001$). (Tablo 1.)

3.1.2. Serum Total Antioksidan Status (TAS) Düzeyleri

Tüm gruplara ait serum TAS düzeylerinin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Sham ve Deksmetomidin (DEX) gruplarında (sırasıyla; $p=0.987$, $p=0.730$) TAS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, İ/R4 grubunda TAS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlendi ($p=0.007$). İ/R4 grubu ile karşılaştırıldığında ise İ/R+Dexmedotimidin(İ/R5) grubunda TAS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p=0.001$) (Tablo 2).

Tablo 2. Serum TOS ve TAS Düzeyleri

	TOS (pg/mL) Median (min-max)	TAS (U/mL) Median (min-max)
Kontrol	54,82 (48,12-62,35)	5,35 (4,03-7,30)
SHAM	55,33 (40,05-62,01)	5,59 (4,25-6,32)
Deksmetomidin(DEX)	55,62 (42,39-65,21)	5,21 (3,85-6,52)
İ/R4	121,91 (112,31-125,42) ^a	1,04 (0,39-1,23) ^a
İ/R+Deksmetomidin(İ/R5)	52,54 (46,47-61,02) ^b	5,27 (4,33-7,02) ^b
p*	0.006	0.007

Değerler median, min-max olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b İR grubu ile karşılaştırıldığında, ($p<0.05$)

* Kruskal Wallis

3.1.3. Serum TRPM2 Düzeyleri

Tüm gruplara ait serum TRPM2 düzeylerinin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Sham ve Deksmetomidin gruplarında (sırasıyla; $p=0.699$, $p=0.198$) TRPM2 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, İ/R4 grubunda TRPM2 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p=0.001$). İ/R4 grubu ile karşılaştırıldığında ise İ/R+Dexmedotimidin (İ/R5) grubunda TRPM2 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p=0.014$). (Tablo 2.)

3.1.4. Serum TRPA1 Düzeyleri

Tüm gruplara ait serum TRPA1 düzeylerinin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Sham ve Deksmetomidin gruplarında (sırasıyla; $p=0.306$, $p=0.345$) TRPA1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, İ/R4 grubunda TRPA1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p=0.001$). İ/R4 grubu ile karşılaştırıldığında ise İ/R+Dexmedotimidin(İ/R5) grubunda TRPA1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p=0.004$). (Tablo 3)

Tablo 3. Serum TRPM2 ve TRPA1 Düzeyleri

	TRPM2 (ng/mL) Median (min-max)	TRPA1 (pg/mL) Median (min-max)
Kontrol	34,56 (25,52-45,62)	126,89 (113,47-148,32)
SHAM	36,89 (27,89-51,02)	148,92 (124,63-157,85)
Deksmetomidin(DEX)	45,80 (31,23-57,63)	148,76 (125,31-169,45)
İ/R4	148,45 (123,45-174,32) ^a	376,37 (299,46-403,62) ^a
İ/R+Deksmetomidin(İ/R5)	39,97 (32,47-54,62) ^b	141,93 (113,04-177,42) ^b
p*	0.009	0.006

Değerler median, min-max olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b İR grubu ile karşılaştırıldığında, ($p<0.05$)

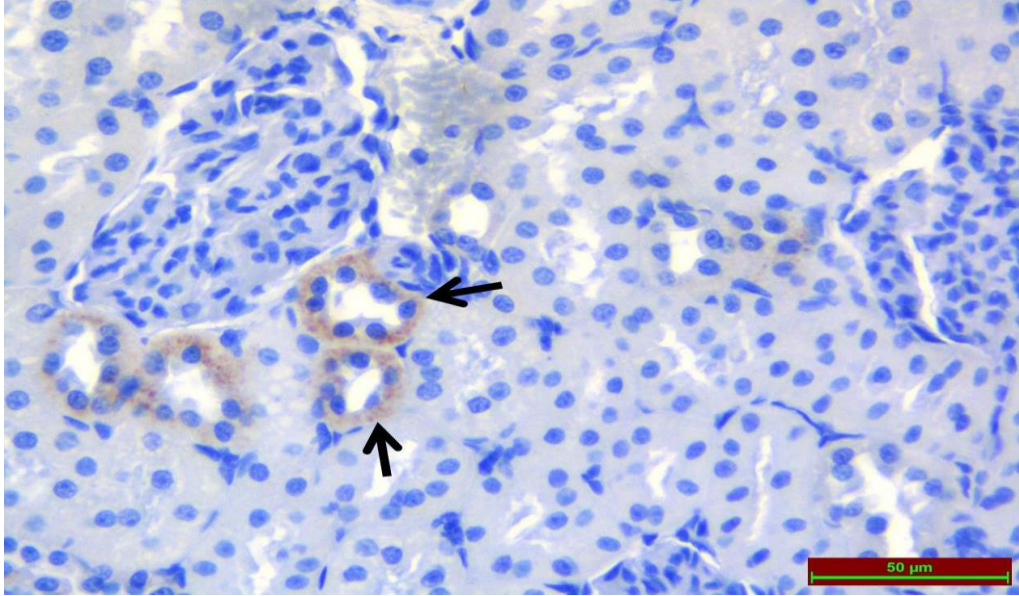
* Kruskal Wallis

3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

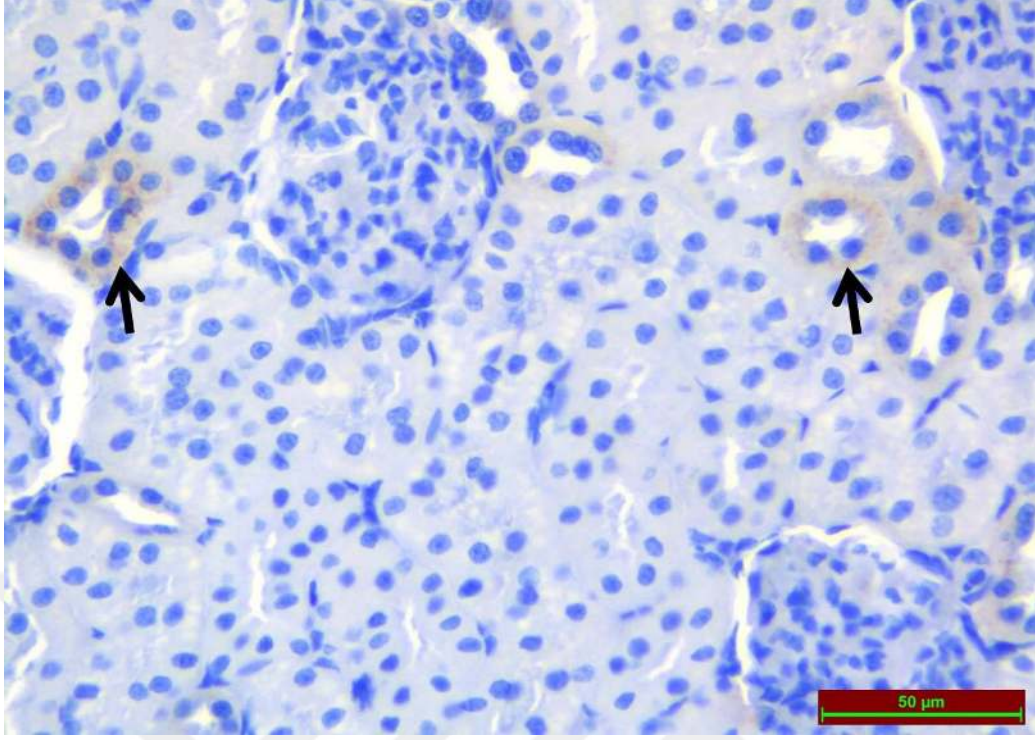
3.2.1. TRPM2 İmmünreaktivitesi

TRPM2 immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TRPM2 immünreaktivitesi böbrek dokusunda tübül hücrelerinde (siyah ok) gözlemlendi.

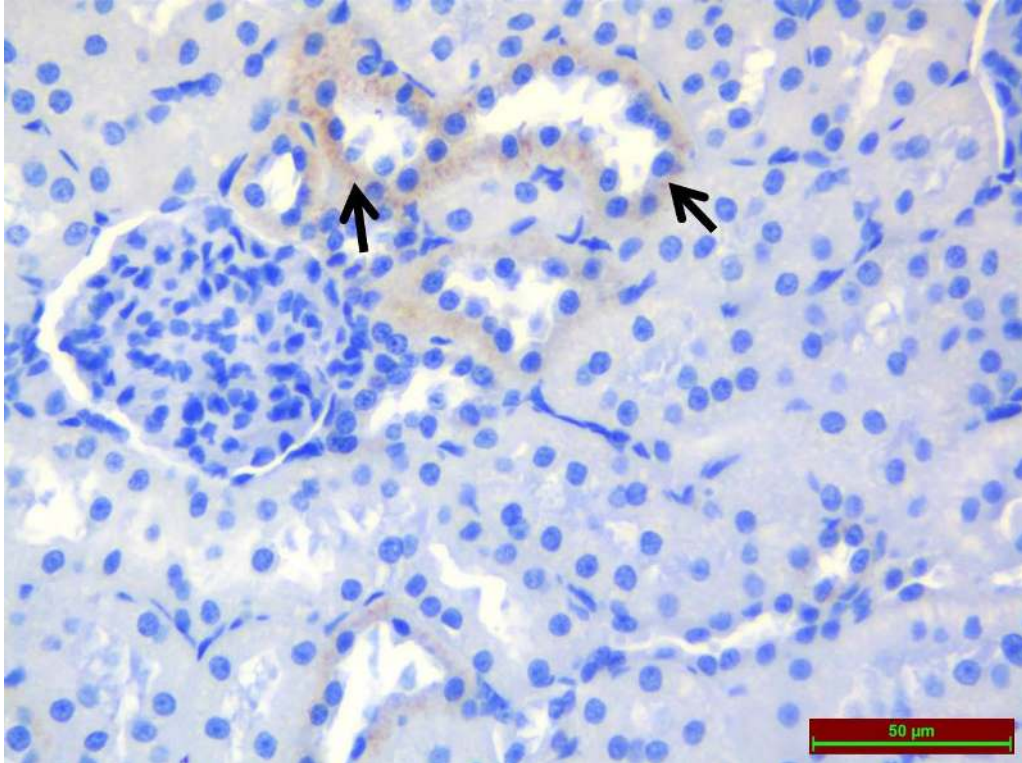
Tüm gruplara ait böbrek dokusunda TRPM2 immünreaktivitesinin değerlendirilmesi için yapılan immünohistokimyasal çalışmada; Kontrol grubu (Şekil 6) ile karşılaştırıldığında Sham (Şekil 7) ve Deksmetomidin(DEX) (şekil 8) gruplarında (sırasıyla; $p=0.984$, $p=0.573$) TRPM2 immünreaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, İskemi/reperfüzyon grubu (İ/R4) grubunda (şekil 9) TRPM2 immünreaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p=0.011$). İ/R4 grubu ile karşılaştırıldığında ise İ/R+Dexmedotimidin(İ/R5) grubunda (şekil 10) TRPM2 immünreaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p=0.004$) (Tablo 4)



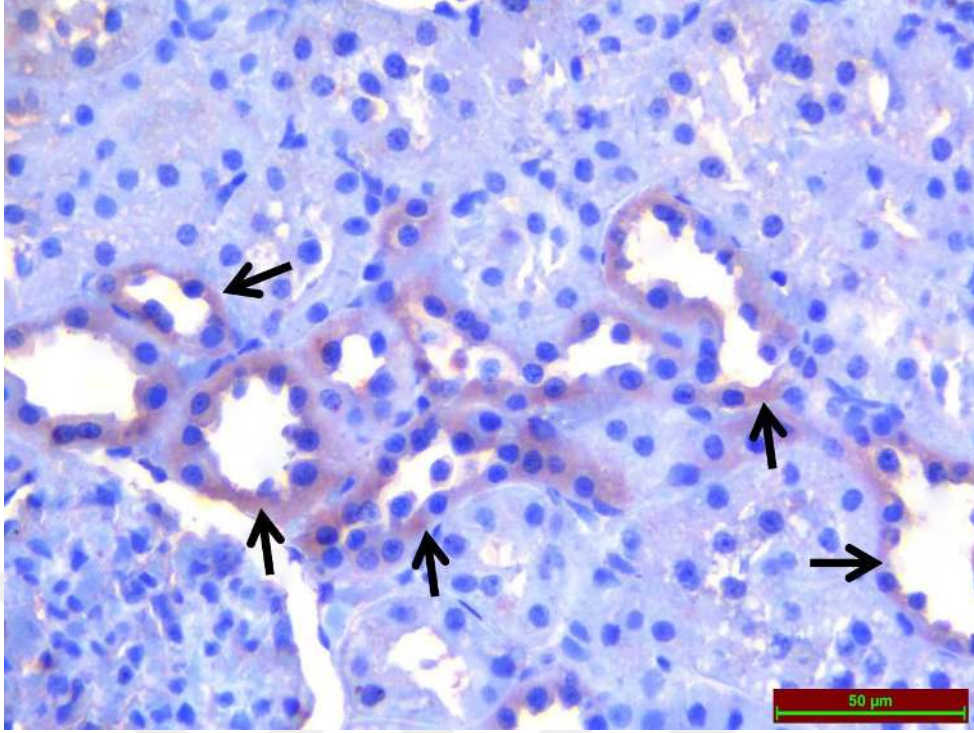
Şekil 6 Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 İmmünreaktivitesi (→).



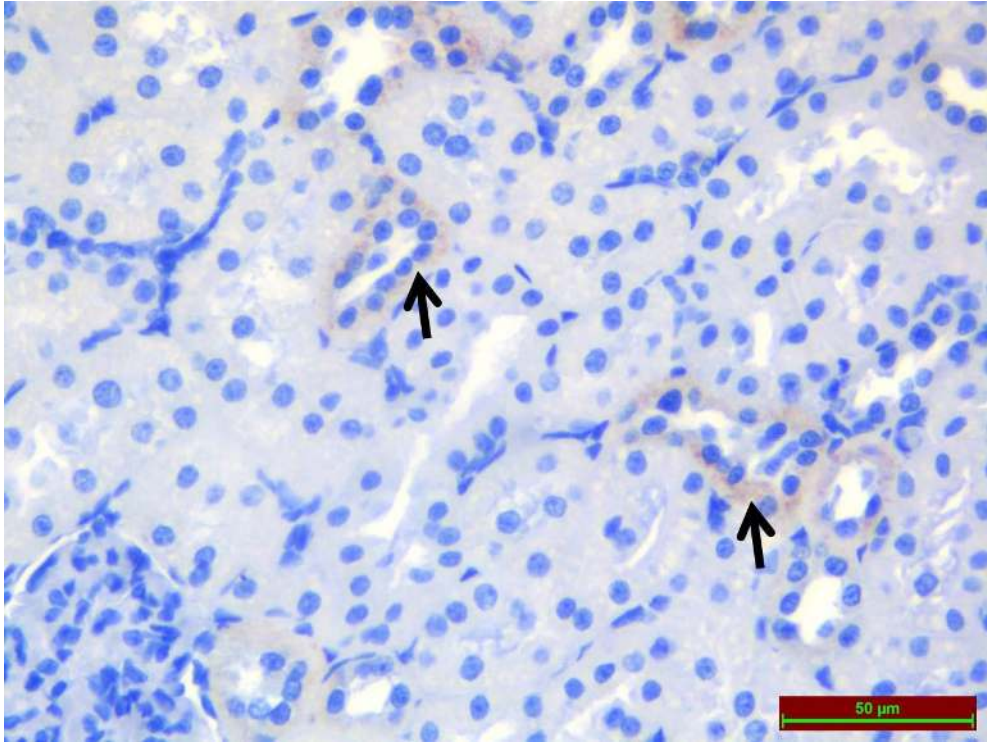
Şekil 7. Sham grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 İmmünreaktivitesi (→).



Şekil 8. Dexmedetomidin(DEX) grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 İmmünreaktivitesi (→).



Şekil 9. İskemi/reperfüzyon (İ/R4) grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 İmmünreaktivitesi (→).



Şekil 10. İ/R+Dexmedotimidin(İ/R5) grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→)

3.2.2 TRPA1 İmmünreaktivitesi

TRPA1 immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TRPA1 immünreaktivitesi böbrek dokusunda tübül hücrelerinde (siyah ok) gözlemlendi.

Tüm gruplara ait böbrek dokusunda TRPA1 immünreaktivitesinin değerlendirilmesi için yapılan immünohistokimyasal çalışmada; Kontrol grubu (şekil 11) ile karşılaştırıldığında Sham (şekil 12) ve Deksmetomidin(DEX) (şekil 13) gruplarında (sırasıyla; $p=0.783$, $p=0.550$) TRPA1 immünreaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, İskemi/reperfüzyon grubu (İ/R4) grubunda (şekil 14) TRPA1 immünreaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p=0.018$). İ/R4 grubu ile karşılaştırıldığında ise İ/R+Dexmedetomidin(İ/R5) grubunda (şekil 15) TRPA1 immünreaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p=0.002$). (Tablo 4).

Tablo 4. TRPM2 ve TRPA1 İmmünreaktivitesi histoskoru

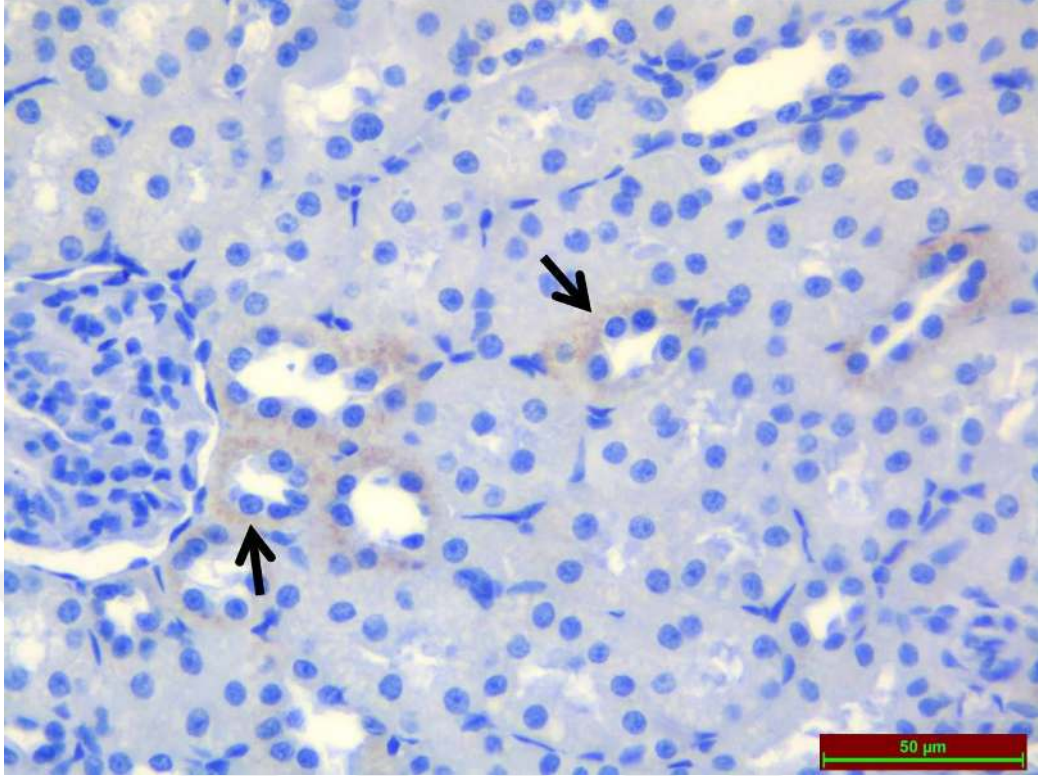
	TRPM2 Median (min-max)	TRPA1 Median (min-max)
Kontrol	0,30 (0,20-0,45)	0,35 (0,20-0,45)
SHAM	0,40 (0,10-0,60)	0,30 (0,10-0,45)
Deksmetomidin(DEX)	0,30 (0,20-0,40)	0,20 (0,10-0,60)
İ/R4	0,85 (0,45-1,80) ^a	0,90 (0,60-1,20) ^a
İ/R+Deksmetomidin(İ/R5)	0,35 (0,10-0,45) ^b	0,30 (0,10-0,45) ^b
p*	0.011	0.004

Değerler median, min-max olarak verilmiştir.

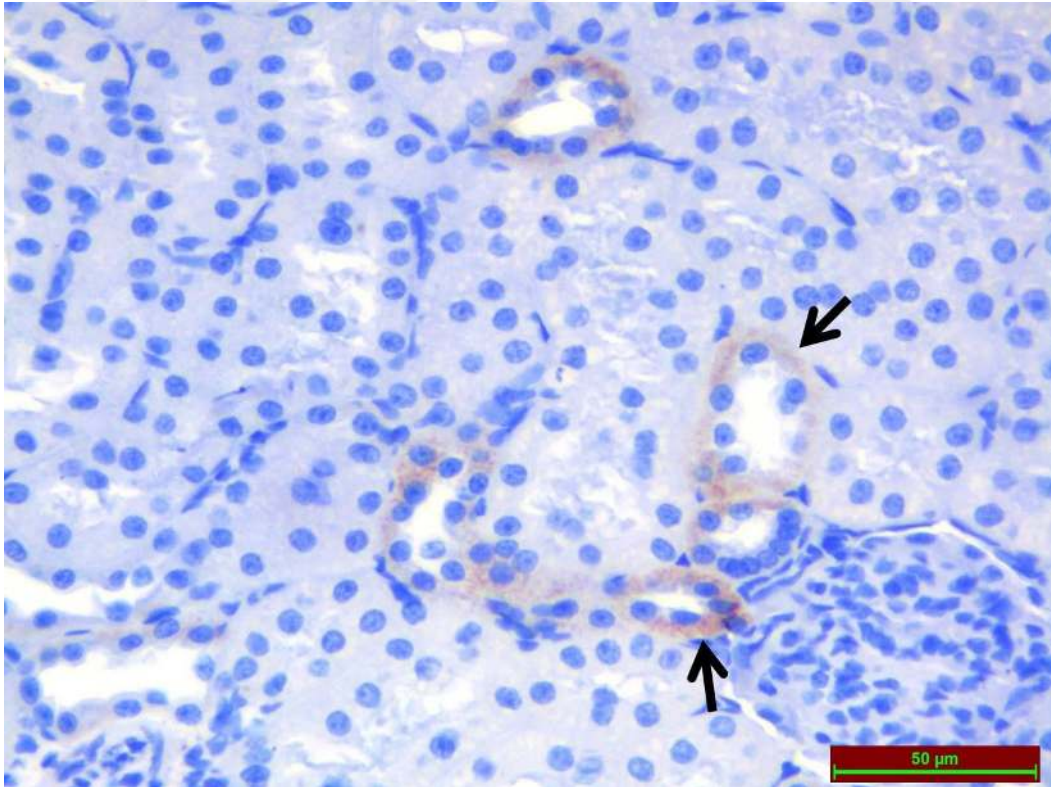
^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b İR grubu ile karşılaştırıldığında, ($p<0.05$)

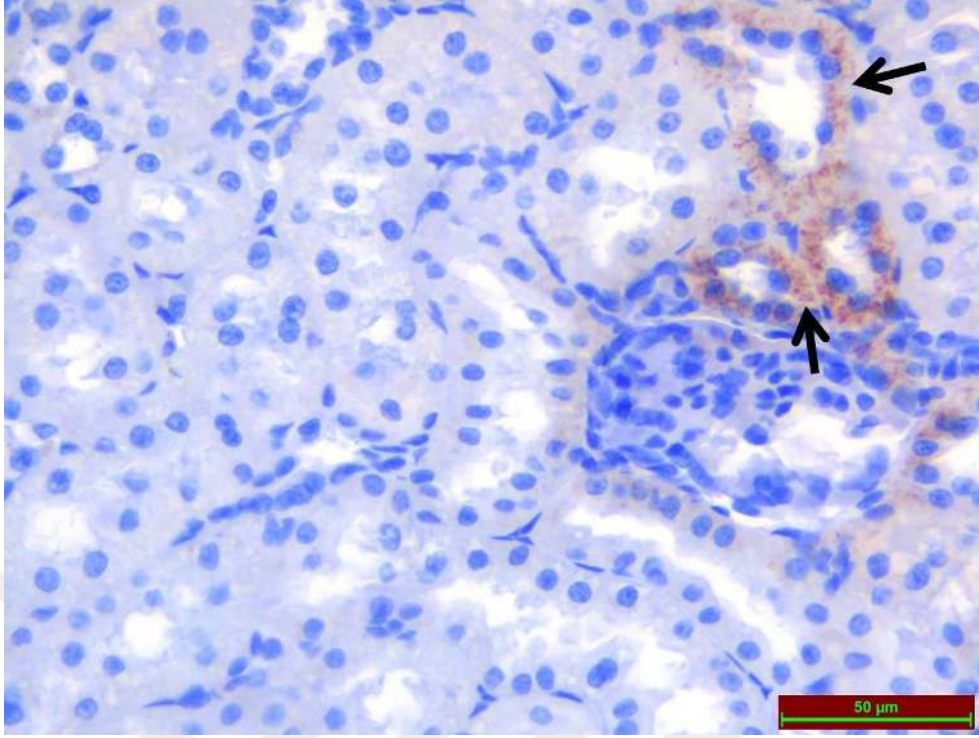
* Kruskal Wallis



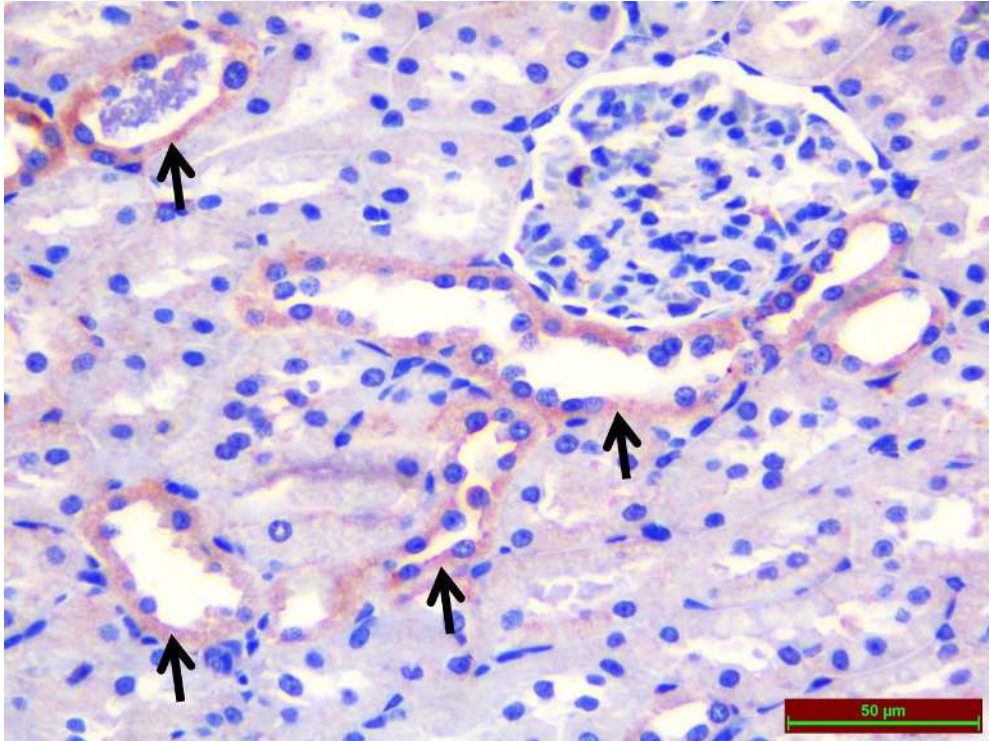
Şekil 11. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TRPA1 immünreaktivitesi (→).



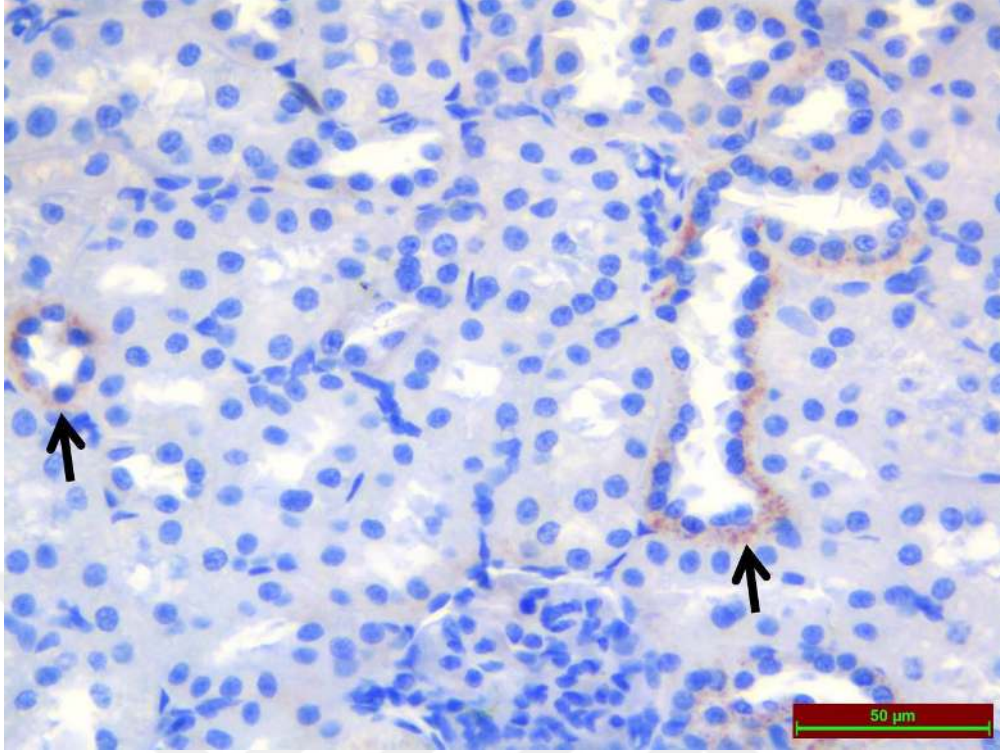
Şekil 12. Sham grubuna ait böbrek dokusunda TRPA1 immünreaktivitesi (→).



Şekil 13. Dexmedotimidin(DEX) grubuna ait böbrek dokusunda TRPA1 immünreaktivitesi (→).



Şekil 14. İskemi/reperfüzyon (İ/R4) grubuna ait böbrek dokusunda TRPA1 immünreaktivitesi (→).



Şekil 15. İ/R+Dexmedetomidin(İ/R5) grubuna ait böbrek dokusunda TRPA1 immünreaktivitesi (→).

3.3. TUNEL Bulgular

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği böbrek dokusunda tübüler hücrelerde (siyah ok) gözlemlendi.

Tüm gruplara ait böbrek dokusunda apoptotik hücrelerin değerlendirilmesi için yapılan TUNEL boyamada; Kontrol grubu (şekil 16) ile karşılaştırıldığında Sham (şekil 17) ve Deksmedetomidin (DEX) (şekil 18) gruplarında (sırasıyla; $p=0.906$, $p=0.790$) TUNEL pozitifliğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, İskemi/reperfüzyon (İ/R4) grubunda (şekil 19) TUNEL pozitifliğinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p=0.006$). İ/R4 grubu ile karşılaştırıldığında ise İ/R+Dexmedetomidin (İ/R5) grubunda (şekil 20) TUNEL pozitifliğinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p=0.003$). (Tablo 5).

Tablo 5. Apoptotik İndeks (%)

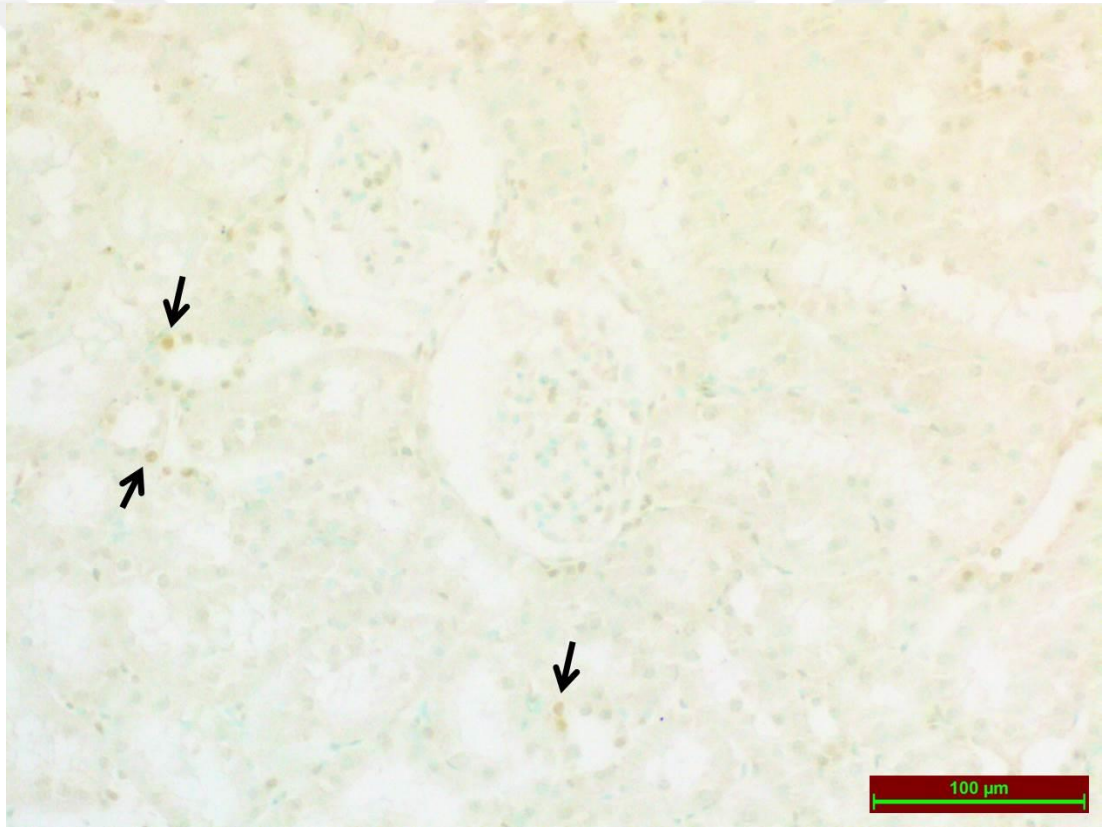
	Apoptotik İndeks (%) Median (min-max)
Kontrol	3,00 (1,00-4,00)
SHAM	2,00 (2,00-5,00)
Deksmedetomidin(DEX)	3,00 (1,00-3,00)
İ/R4	9,00 (6,00-14,00) ^a
İ/R+Deksmedetomidin(İ/R5)	2,50 (1,00-5,00) ^b
p*	0.006

Değerler median, min-max olarak verilmiştir.

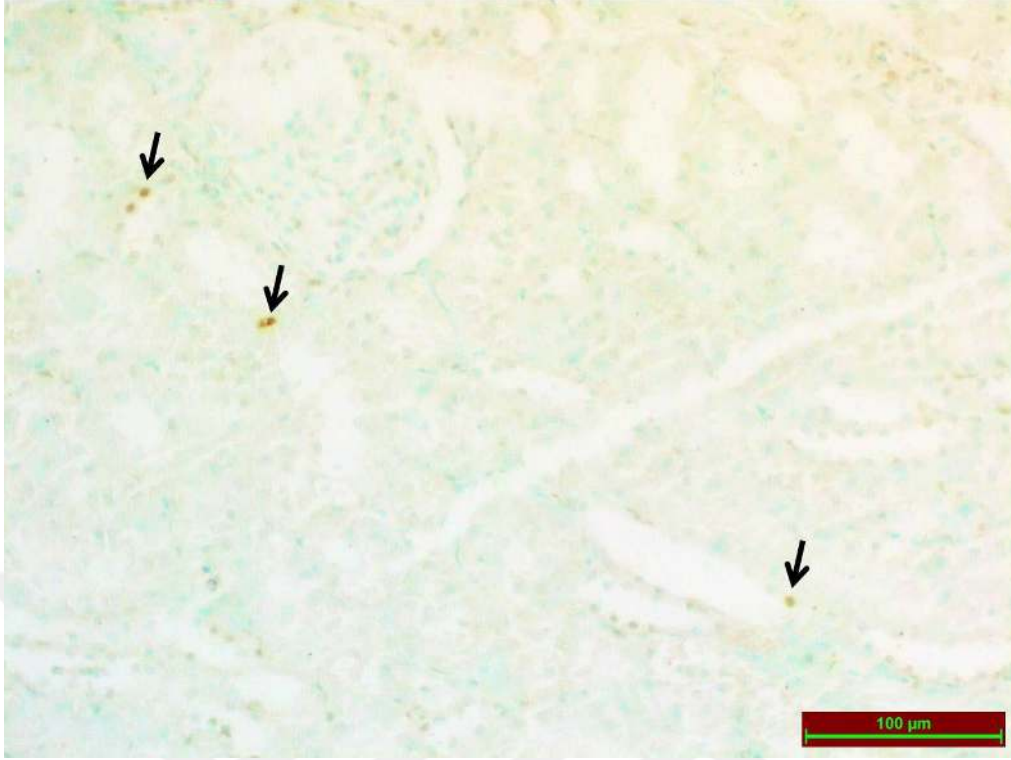
^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b İR grubu ile karşılaştırıldığında, (p<0.05)

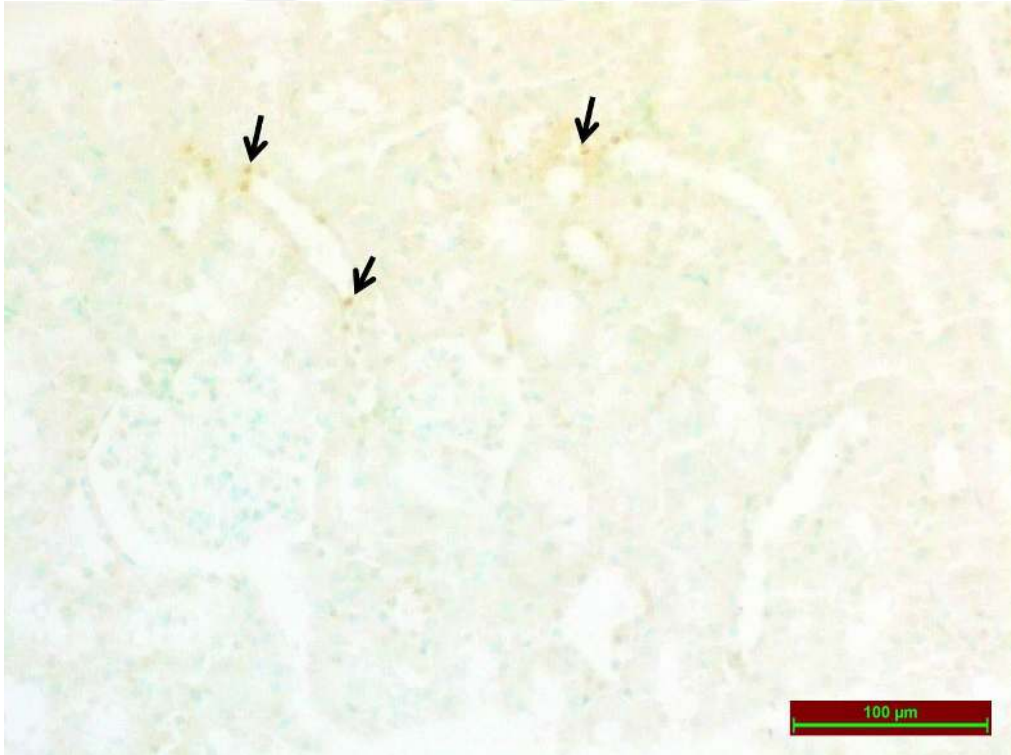
* Kruskal Wallis



Şekil 16. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→).



Şekil 17. Sham grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→).



Şekil 18. Dexmedotimidin(DEX) grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→).



Şekil 19. İskemi/reperfüzyon (İ/R4) grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→).



Şekil 20. İ/R+Dexmedetimidin(İ/R5) grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→).

4.TARTIŞMA

İ/R hasarı, akut böbrek yetmezliğinin başlıca nedeni olmaya devam etmektedir (113). Dolayısıyla, iskemi ve reperfüzyonun neden olduğu böbrek hasarı, hem temel hem de klinik araştırmalar için ana odak noktasıdır (114). Histolojik olarak akut tübüler nekrozun böbrek İ/R hasarı sırasında veya sonrasında geliştiği gösterilmiştir. Bu duruma eşlik eden organ disfonksiyonu genellikle artmış mikrovasküler geçirgenlik, interstisyel ödem, bozulmuş vazoregülasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve parankimal hücre disfonksiyonu ve nekroz ile ilişkilidir (115).

İ/R hasarının iskemiden kaynaklandığı bilinmektedir ve daha sonra kan akışının düzelmesi hasarı beklenmedik bir şekilde kötüleştirir. Renal tübüler epitel hücre apoptozisi, İ/R 'de meydana gelen temel patofizyolojik değişikliktir ve böbrek fonksiyonundaki hasarın boyutunu tanımlar. İ/R hasarı, aralarında endotel hücre aktivasyonu, adezyon moleküllerinin ekspresyonu, lökositlerin ve trombositlerin adezyonu, agregasyonu ve aktivasyonu, serbest oksijen radikallerinin üretimi ve hücresel kalsiyum artışının yanı sıra çeşitli inflamatuvar reaksiyonlarla ilişkilidir. İ/R'nin neden olduğu ABH ve bu süreçlerin aracılık ettiği apoptoz böbrek fonksiyon bozukluğuna yol açan ve yüksek bir ölüm oranına yol açan klinik bir sendromdur (116,117).

İ/R hasarı birçok faktörün rol aldığı kompleks bir patofizyolojiye sahiptir. İskeminin yol açtığı doku hasarı, reperfüzyon sırasında hücre içinde birçok biyokimyasal yolda üretilen reaktif oksijen türleri aracılığı ile hücre ölümüne yol açabilir. Ayrıca pro-inflamatuvar mediyatörlerin oluşumu ve nötrofil, makrofaj ve lenfositlerin bölgeye toplanması, hasarın genişlemesini sağlar ve İ/R hasarının sistemik etkilerinden sorumludur. Tüm bu mekanizmalar iskeminin süresi ve şiddetine göre dokular arasında da farklılıklar gösterir. Bu nedenle İ/R hasarında oksidatif stresin biyokimyasal mekanizmalarının anlaşılması doku ve organlara yönelik yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilebilmesi açısından klinikte önemli bir role sahiptir.

Biyolojik sistemlerde elektron alıcı moleküller serbest radikaller olarak adlandırılırlar (118). Serbest radikallerin aktif oksijen türevlerine de oksidanlar denir. Oksidanlar hedef moleküllerden elektron alma yetenekleri nedeniyle, bu hedef molekülün yapısını ve fonksiyonlarını değiştirerek hücre zarını, DNA, RNA gibi genetik materyali ve değişik enzimatik olayları etkileyerek hücre hasarlarına yol açtığı

bilinmektedir. Bu oksidanlar canlı organizmalarda sitoplazmik, mitokondriyel ve ekstrasellüler formları olan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzim sistemleri ile seruloplazmin, transferrin, indirgenmiş glutatyon (GSH), askorbik asit (vitamin C) ve alfa-tokoferol gibi antioksidanlar tarafından yıkılırlar. Serbest radikallerin hasar verme özelliklerinden dolayı diabetes mellitus, iskemi reperfüzyon hasarı, kanser, yaşlanma, kas hastalıkları gibi birçok hastalıklara yol açtığına dair çalışmalar bulunmaktadır (119).

Oksidatif stresin genel bir tanımı, prooksidan-antioksidan dengesinin prooksidan yönüne kayması sonucu potansiyel hücresel hasarlara yol açması durumudur (119). Bununla birlikte, oksidatif stres durumunun ölçümü, düzeltme ve onarımı yapan kompleks endojen savunma sistemlerin olmasından dolayı zor olabilir. Oksidatif stres, serbest radikal üretiminin artışı ve antioksidan savunmanın azalması sonucu olabilir. Bu nedenle, oksidatif stres biyobelirteci olarak antioksidan tüketiminin araştırılması antioksidan miktarlarındaki azalış veya onların metabolitlerindeki artışın değerlendirilmesi ile olabilir (120). Birçok hücresel yapıda eşzamanlı olarak meydana gelen oksidatif hasar, apoptoz ve nekroz dahil olmak üzere fonksiyonda bozulmaya neden olabilir. Hasar, belirli oksidatif stres biyobelirteçleri kullanılarak spesifik metodoloji ile tespit edilebilen moleküler bir 'ayak izi' bırakır. Renal transplantasyon sırasında, oksidatif stres, organ korunmasının iskemik fazında ve ani oksidasyonun greftin ek hasara eğilimli hale getirdiği reperfüzyon sırasında böbrek allogreftini olumsuz etkileyen çok önemli bir mekanizmadır (121). Çalışmamızda İ/R4 grubundaki artmış TUNEL pozitifliği oksidatif stresin DNA hasarına neden olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

Reaktif oksijen türleri, esas olarak çok kısa yarı ömürleri nedeniyle oksidatif stresi değerlendirirken ölçülmesi zor olan bileşiklerdir, bu nedenle biyobelirteç rolünü pek oynamazlar. Bununla birlikte, ROT belirli bir biyolojik molekül ile birleşirse, benzersiz bir kimyasal 'parmak izi' bırakır. Bu şekilde elde edilen biyobelirteçler, oksidatif hasarı veya terapötik ajanlar dahil olmak üzere antioksidanların etkilerini değerlendirmek için kullanılabilir. Biyobelirteç için temel kriter, hastalığın daha sonraki gelişiminin tahmin edilmesindeki rolüdür. Ayrıca, bir biyobelirteç için önemli teknik kriterler, in vivo olarak devam eden toplam oksidatif hasarın büyük bir bölümünü saptaması, tutarlı laboratuvar testleri sağlaması, sonuçların aynı koşullar

altında değişmemesi, depolama sırasında stabil olması, kimyasal olarak sağlam ölçüm teknolojisi kullanmasıdır. İdeal bir biyobelirteç yoktur, ancak birçoğu yeterli doğruluk sağlar (121).

Farklı antioksidanların serum veya plazma konsantrasyonları laboratuvarlarda ayrı ayrı ölçülebilir. Fakat bu ölçümleri yapmak zaman alıcı, yoğun iş yükü, pahalı ve komplike teknikleri gerektirir. Farklı antioksidan moleküllerini ayrı ayrı ölçmek antioksidan etkileri aditif (binişik) olduğu için pratik değildir. Bu nedenle total antioksidan kapasite (total antioxidant capacity= TAC) veya total antioksidan durum (total antioxidant status=TAS) ölçümü yapılması en çok kabul gören yöntemdir (122).

Geçici reseptör potansiyeli melastatin-2 (TRPM2) kanalı, geçici reseptör potansiyel kanalı üst ailesine aittir ve sodyum ve kalsiyuma geçirgen bir katyon kanalıdır. TRPM2 iyon kanalı böbrekte eksprese edilir ve akut böbrek hasarı sırasında üretilen hidrojen peroksit, kalsiyum ve siklik adenosin difosfat riboz (cADPR) gibi çeşitli moleküller tarafından aktive edilebilir (123).

TRPM2 kanalı aynı zamanda redoksa duyarlı bir katyon kanalıdır ve hidrojen peroksit tarafından indüklenen TRPM2 yoluyla kalsiyum girişi ile hücre ölümüne aracılık eder (124). Böbrek İ/R hasarının bir murin modelinde seçici olmayan katyon kanalı geçici reseptör potansiyeli melastatin 2'yi (TRPM2) değerlendirilmiş (9). TRPM2 eksikliği olan fareler, gelişmiş böbrek fonksiyonu, azalmış histolojik hasar, proapoptotik yolların baskılanması ile yansıtıldığı üzere iskemik hasara dirençli olduğu görölmüş. Ayrıca, farmakolojik TRPM2 inhibisyonu da İ/R hasarına karşı koruyucuydu. TRPM2, esas olarak böbrek proksimal tüböl epitel hücrelerinde lokalize olduğu görölmüş ve kimerik farelerde yapılan çalışmalar, TRPM2'nin etkilerinin hematopoietik hücrelerden ziyade parankimal hücrelerde ekspresyona bağlı olduğunu göstermiştir. TRPM2 eksikliği olan fareler, iskemiden sonra daha az oksidatif stres ve daha düşük NADPH oksidaz aktivitesine sahipimiş (9).

Geçici reseptör potansiyeli ankirin 1 (TRPA1), kalsiyum geçirgenliğini içeren, ROT gibi toksik veya inflamatuvar mediyatörler tarafından aktive edilebilen seçici olmayan bir transmembran katyon kanalıdır (125). TRPA1, inflamasyon için oksidatif bir sensör ve bekçidir. Bununla birlikte, TRPA1'in doku inflamasyonu ve yaralanmasındaki rolü tartışmalıdır. Son çalışmalar, TRPA1'in renal tüböl hücreler dahil olmak üzere çeşitli nöron dışı hücrelerde eksprese edildiğini göstermiştir (10).

Bu nöronal olmayan hücrelerde TRPA1'in aktivasyonu, inflamatuvar yanıtı şiddetlendirebilir (126). Bununla birlikte, iki deneysel hayvan çalışması, TRPA1'in sepsis veya anjiyotensin-II'nin neden olduğu böbrek hasarına karşı koruduğunu ileri sürmüştür (11, 12). Aksine, birkaç çalışma TRPA1'in antioksidan, antiinflamatuvar, organ koruyucu etkiler gösterdiğini ileri sürmüştür (127, 128). TRPA1 ve akut böbrek hasarı ile ilgili literatür sınırlıdır. Yapılan başka bir çalışmada renal tübüler epitelyal TRPA1'in mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK) ve nükleer faktör- κ B (NF- κ B) sinyalleme yoluyla İ/R kaynaklı böbrek hasarına aracılık etmek için oksidatif stres sensörü görevi görebileceğini göstermiştir (106). Wu ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada böbrek tübüllerinde yüksek TRPA1 ekspresyonunun akut böbrek hasarlı (ABH) hastalarında tübüler hasar için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektymiş (129). Yüksek tübüler TRPA1 ekspresyonu, ABH'yı takiben tübüler hasarın ciddiyeti ve kötü renal sonuçlar ile ilişkili bulunmuş (129).

Deksmedetomidin (DEX), güçlü ve selektif alfa-2 adrenoseptör agonisti olup yoğun bakım ortamlarında yatan hastaların sedasyonu için 1999 yılında ABD Gıda ve İlaç İdaresi tarafından onaylandı. O zamandan beri, bölgesel ve genel anestezi gibi diğer olası endikasyonları bildiren artan sayıda araştırma makalesi ortaya çıktı.

Deksmedetomidinin renal hasarın korunmasındaki rolü çok açık değildir. Bununla birlikte, deksmedetomidinin böbrekte norepinefrinin sempatik aracılı presinaptik salınımını azalttığı, dolaşımdaki norepinefrinde stres kaynaklı artışları azalttığı ve renal kan akışını ve glomerüler filtrasyonu koruyabildiği daha önce bildirilmiştir (130).

DEX, kimyasal kanalların kolaylaştırılması yoluyla ve genetik düzenlemeyi modüle ederek, nörotransmitter salınımı, insülin salınımı, vazokonstriksiyon, renal sodyum yeniden emilimi ve bağırsak klorür salınımı dahil olmak üzere bir dizi fizyolojik işlevi düzenler (109). DEX ayrıca renal vasküler direnci azaltarak glomerüler filtrasyon hızını ve filtrasyon fraksiyonunu arttırdığı, böylece olası iskeminin histopatolojik değişiklikleri engellediği gösterilmiştir (112). DEX, G proteinine bağlı reseptörleri içeren bir dizi yolu modüle eder. Alfa-2 adrenoreseptörler, renal distal kıvrımlı tübül hücrelerinde protein kinaz C (PKC) aktivitesini ve inozitol trifosfat üretimini uyarır. Bu, PKC'nin, organ koruması sağlayan hücre içi sinyal yollarını, sarkolemmal ve mitokondriyal ATP'ye duyarlı potasyum kanallarının

açılmasını ve gen transkripsiyonu yoluyla koruyucu hücrel protein sentezini teşvik etmesi nedeniyle iskemik ön koşullandırma için önemli olduğunu göstermektedir. (131). Bu bulgular, DEX'in İ/R'nin neden olduğu böbrek hasarına karşı koruduğu hipotezini desteklemektedir. DEX ayrıca renal vasküler direnci azaltır ve glomerüler filtrasyon hızını ve filtrasyon fraksiyonunu artırır, böylece iskeminin patolojik özellikleri ile uyumlu histolojik değişiklikleri teşvik eder (112).

Renal iske mi reperfüzyon hasarının bir hayvan modelinde deksmedetomidinin renal koruyucu etkilerine dair kanıtlar bulunmuş. Bu hayvan modelinde, deksmedetomidin, tedavi edilmemiş hayvanlara kıyasla daha düşük nötrofil jelatin ile ilişkili lipoprotein ve sistatin c serum konsantrasyonları ile ilişkilendirilmiştir (132). Ayrıca yakın zamanlı Loomba ve arkadaşlarının yaptığı bir meta-analizde dexmedotimidinin, yoğun bakım ünitesinde kalış süresi, mekanik ventilasyon süresi, idrar çıkışı, kreatinin klirensi, serum kreatinin ve kan üre nitrojen parametreleri üzerinde olumlu etkilerini incelenmiş olup dexmedotimidinin ABH üzerinde olumlu etkisi olduğunu bildirmiştir (133). Yine aynı meta-analizde deksmedetomidin kullanımından sonra yatan hasta ölüm sıklığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark kaydedilmiştir. Deksm edetomidinin renal koruyucu etkileri pediatrik popülasyonda da gösterilmiştir. Pediatrik vakalarda deksmedetomidin infüzyonu, renal vazokonstriksiyonu azaltarak kontrast kaynaklı nefropati insidansını azaltmıştır (134).

Böbrek İ/R hasarının yaygın gözlenmesi ve bu hasarın minimize edilmesi için kullanılan ilaçlardan dexmedotimidinin histopatolojik etkisi yukarıda belirtilen geniş kapsamlı çalışmalara rağmen henüz tam olarak ortaya koyulamadığından bu çalışma böbrek İ/R hasarında dexmedotimidin kullanımının histopatolojik etkisinin mikro hücrel boyutta katkı yapabilmek amacıyla dizayn edilmiştir.

Çalışmamızda, ilk olarak tüm gruplara ait böbrek dokuların immünohistokimyasal yöntemle TRPM2 ve TRPA1 ekspresyon düzeyleri ölçüldü. Doku TRPM2 ve TRPA1 ekspresyon düzeyleri; kontrol, Sham, DEX ve İ/R5 gruplarında istatistiksel olarak benzer izlendi. Kontrol gruplarıyla kıyaslandığında İ/R4 grubunda TRPM2 ve TRPA1 ekspresyon düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi. Ayrıca daha önce bahsettiğimiz TRPM2 kanalları, sıcaklık ve oksidatif stresi algılamada , hücrel ölümü kontrol etmede rol oynadığını söylemiştik (135). Çalışmamızdaki diğer parametre, gruplardan aldığımız serum örneklerinden TRPM2

ve TRPA1 ekspresyon düzeyleri ölçülmesiydi. Doku düzeyinde çalışılan sonuçlara benzer şekilde TRPM2 ve TRPA1 ekspresyon düzeyleri; kontrol, Sham, DEX ve İ/R5 gruplar arasında istatistiksel olarak fark izlenmemiş olup, kontrol gruplarıyla kıyaslandığında İ/R4 grubunda TRPM2 ve TRPA1 ekspresyon düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış bulduk.

Çalışmamızda tüm gruplardan çalışılan total oksidan durum (TOS) ölçümü kontrol, Sham, DEX ve İ/R5 grupları arasında istatistiksel olarak fark izlenmemiş olup, kontrol gruplarıyla kıyaslandığında İ/R4 grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulduk.

Çalışmamızda tüm gruplardan çalışılan total antioksidan durum(TAS) ölçümü kontrol, Sham, DEX ve İ/R5 gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiş olup, kontrol gruplarıyla kıyaslandığında İ/R4 grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulduk.

Bu çalışmada, İ/R uygulanan ratlarda TOS artarken, TAS seviyelerinin azalması, hem kan hem de böbrek dokusunun artmış oksidatif stres seviyesi ile belirtildiği gibi antioksidan sistemde bozulmaya yol açmıştır.

Çalışmamızda bir apoptotik index belirteci olan TUNEL yöntem kullanıldı. Dolaylı yoldan hücresel düzeyde oksidatif stres belirteci olarak görülen bu yöntem kontrol, Sham, DEX ve İ/R5 gruplarında fark izlenmemiş olup, kontrol gruplarıyla kıyaslandığında İ/R4 grubunda anlamlı olarak artmış bulduk. Bu çalışmada TUNEL yöntemle dexmedetomidinin böbrek dokusunda İ/R ile indüklenen apoptozu belirgin şekilde baskıladığı saptanmıştır.

Sonuç olarak; deneysel iskemi/reperfüzyonun böbrek dokusunda ve serumda ölçülen TRPM2, TRPA1 ekspresyonun, apoptozis ve TOS seviyelerini arttırması, TAS seviyelerinde azaltması böbrek iskemi/reperfüzyonun patofizyolojisinde bir biyobelirteç olarak TRPM2 ve TRPA1'nin önemli bir rol oynayabileceği ve TRPM2 ve TRPA1 blokerleri ve/veya inhibitörleriyle ileride daha geniş çalışmaların yapılması ile klinik olarak akut böbrek hasarında TRPM2 ve TRPA1 ile ilgili tedavi seçeneklerinin kullanılabileceği kanaatine varılmıştır. Yaptığımız bu çalışma ile dexmedetomidinin cerrahi geçirenlerde, kritik hastalarda ve yoğun bakım ünitesinde yatanlarda renal koruyucu etkilerini TRPM2 ve TRPA1 ekspresyonu, TOS değerinin azaltması ve TAS değerinin artırması ile kanıtlamaya çalıştık. Ayrıca bu çalışmada

TUNEL yöntem kullanılarak dexmedetomidinin hücrelerin apoptotik indexini azalttığını gösterdik.



5. KAYNAKLAR

1. Abbas A, Kumar V, Aster J. Temel patoloji. (Çev: Çevikbaş U, Tuzlalı S, Gülloğlu M), 9. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2014: 517-551.
2. Gupta RK, Patel AK, Shah N, Chaudhary AK, Jha UK, Yadav UC, et al. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. Asian Pac J Cancer Prev 2014; 15: 4405-4409.
3. Dokuyucu R, Karateke A, Gokce H, Kurt RK, Ozcan O, Ozturk S, et al. Antioxidant effects of erdosteine and lipoic acid in ovarian ischemia-reperfusion injury. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2014; 183: 23-27.
4. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri. 1. Baskı Konya: Mimoza Yayınları, 1995: 3-95.
5. Maier CM, Sun GH, Kunis DM, Giffard RG, Steinberg GK. Neuroprotection by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist CGP 40116: In vivo and in vitro studies. J Neurochem 1995; 65: 652–659.
6. Kocoglu H, Karaaslan K, Gonca E, Bozdogan O, Gulcu N. Preconditioning effects of dexmedetomidine on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. Curr Ther Res Clin Exp 2008; 69: 150–158.
7. Hoffman WE, Kochs E, Werner C, Thomas C, Albrecht RF. Dexmedetomidine improves neurologic outcome from incomplete ischemia in the rat. Reversal by the alpha 2-adrenergic antagonist atipamezole. Anesthesiology 1991; 75: 328–332.
8. Kocoglu H, Ozturk H, Ozturk H, Yilmaz F, Gulcu N. Effect of dexmedetomidine on ischemia-reperfusion injury in rat kidney: a histopathologic study. Ren Fail 2009; 31: 41-70.
9. Gao G, Wang W, Tadagavadi RK, Briley NE, Love MI, Miller BA, et al. TRPM2 mediates ischemic kidney injury and oxidant stress through RAC1. J Clin Invest. 2014; 124: 4989-5001.
10. Dembla S, Hasan N, Becker A, Beck A, Philipp SE. Transient receptor potential a1 channels regulate epithelial cell barriers formed by mdck cells. FEBS Lett 2016; 590: 1509–1520.
11. Zhu J, Zhang S, Geng Y, Song Y. Transient receptor potential ankyrin 1 protects against sepsis-induced kidney injury by modulating mitochondrial biogenesis and mitophagy. Am J Transl Res 2018; 10: 4163–4172.

12. Ma S, Zhang Y, He K, Wang P, Wang DH. Knockout of trpa1 exacerbates angiotensin-II induced kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2019; 317: 623–631.
13. Arınsoy T, Güngör Ö, Koçyiğit İ. Böbrek Fizyopatolojisi. 2017: 7-21 .
14. Guyton AC, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji Kitabı. (Çev: Yeğen B, Alican İ H, Solakoğlu Z), s.305-432. 13. Basım. Güneş Tıp Kitabevleri Ltd Şti. 2017.
15. Remuzzi G, Ruggenenti P, Benigni A. Understanding the nature of renal disease progression. *Kidney Int* 1997; 51: 2-15.
16. Ortadeveci A, Öz S. Böbrek İskemi-Reperfüzyon Hasarı Üzerine bir Derleme, *Osmangazi Tıp Dergisi* 2017; 39: 115-124.
17. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Cell biology of ischemia/reperfusion injury. *Int Rev Cell Mol Biol* 2012; 298: 229-317.
18. Kosieradzki M, Rowinski W. Ischemia/reperfusion injury in kidney transplantation: mechanisms and prevention. *Transplantation proceedings* 2008; 40: 3279-3288.
19. Şener, G, Yeğen BÇ. İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim Derg* 2009; 22: 5-13.
20. Parks DA, Williams TK, Beckman JS. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol* 1988; 254: 768-774.
21. Di Lisa F, Canton M, Menabò R, Kaludercic N, Bernardi P. Mitochondria and cardioprotection. *Heart Fail Rev* 2007; 12: 249-260.
22. Sugiyama S, Hanaki Y, Ogawa T, Hieda N, Taki K, Ozawa T. The effects of SUN 1165, a novel sodium channel blocker, on ischemia-induced mitochondrial dysfunction and leakage of lysosomal enzymes in canine hearts. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 157: 433-439.
23. Kako K, Kato M, Matsuoka T, Mustapha A. Depression of membrane-bound Na⁺-K⁺-ATPase activity induced by free radicals and by ischemia of kidney. *Am J Physiol* 1988; 254: 330-337.
24. Kato M, Kako KJ. Effects of N-(2-ercaptopropionyl)glycine on ischemic-reperfused dog kidney in vivo and membrane preparation in vitro. *Mol. Cell. Biochem* 1987; 78: 151-159.

25. Roberts BN, Christini DJ. NHE inhibition does not improve Na(+) or Ca(2+) overload during reperfusion: using modeling to illuminate the mechanisms underlying a therapeutic failure. *PLoS Comput Biol* 2011; 7: 1002241.
26. Sanada S, Komuro I, Kitakaze M. Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 301: 1723-1741.
27. Inserte J, Hernando V, Garcia-Dorado D. Contribution of calpains to myocardial ischaemia/reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2012; 96: 23-31.
28. Peng TI, Jou MJ. Oxidative stress caused by mitochondrial calcium overload. *Ann NY Acad Sci* 2010; 1201: 183-188.
29. Javadov S, Hunter JC, Barreto-Torres G, Parodi-Rullan R. Targeting the mitochondrial permeability transition: cardiac ischemia-reperfusion versus carcinogenesis. *Cell Physiol Biochem* 2011; 27: 179-190.
30. Becker LB. New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 461-470.
31. Alkaitis MS, Crabtree MJ. Recoupling the cardiac nitric oxide synthases: tetrahydrobiopterin synthesis and recycling. *Curr Heart Fail Rep* 2012; 9: 200-210.
32. Li C, Jackson RM. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 282: 227-241.
33. Bayrak O, Bavbek N, Karatas OF, Bayrak R, Catal F, Cimentepe E, et al. *Nigella sativa* protects against ischaemia/reperfusion injury in rat kidneys. *Nephrol. Dial. Transplant* 2008; 23: 2206-2212.
34. Vanden Hoek TL, Shao Z, Li C, Zak R, Schumacker PT, Becker LB. Reperfusion injury on cardiac myocytes after simulated ischemia. *Am J Physiol* 1996; 270: 1334-1341.
35. Kadenbach B, Ramzan R, Moosdorf R, Vogt S. The role of mitochondrial membrane potential in ischemic heart failure. *Mitochondrion* 2011; 11: 700-706.
36. Gustafsson AB, Gottlieb RA. Heart mitochondria: gates of life and death. *Cardiovasc Res* 2008; 77: 334-343.
37. Kanduc D, Mittelman A, Serpico R, Sinigaglia E, Sinha AA, Natale C, et al. Cell death: apoptosis versus necrosis (review). *Int J Oncol* 2002; 21: 165-170.
38. Gottlieb RA. Cell death pathways in acute ischemia/reperfusion injury. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2011; 16: 233-238.

39. Baines CP. How and when do myocytes die during ischemia and reperfusion: the late phase. *J. Cardiovasc Pharmacol Ther* 2011; 16: 239-243.
40. Saikumar P, Dong Z, Weinberg JM, Venkatachalam MA. Mechanisms of cell death in hypoxia/reoxygenation injury. *Oncogene* 1998; 17: 3341-3349.
41. Al-Awqati Q, Oliver JA. Stem cells in the kidney. *Kidney international* 2002; 61: 387-395.
42. Silva P. Energy and fuel substrate metabolism in the kidney. *Semin Nephrol* 1990; 10: 432-444.
43. White LE, Cui Y, Shelak CMF, Lie ML, Hassoun HT. Lung endothelial cell apoptosis during ischemic acute kidney injury. *Shock* 2012; 38: 320-327.
44. Bagnasco S, Good D, Balaban R, Burg M. Lactate production in isolated segments of the rat nephron. *Am J Physiol* 1985; 248: 522-526.
45. Chatauret N, Badet L, Barrou B, Hauet T. Ischemia-reperfusion: From cell biology to acute kidney injury. *Prog Urol* 2014; 24 : 4-12.
46. Brezis M, Rosen S, Silva P, Epstein FH. Renal ischemia: a new perspective. *Kidney Int* 1984; 26: 375-383.
47. Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Acute kidney injury. *Lancet* 2008; 372: 1863-1865.
48. Kwon O, Hong S-M, Ramesh G. Diminished NO generation by injured endothelium and loss of macula densa nNOS may contribute to sustained acute kidney injury after ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 296: 25-33.
49. Molitoris BA, Sandoval R, Sutton TA. Endothelial injury and dysfunction in ischemic acute renal failure. *Crit Care Med* 2002; 30: 235-240.
50. Basile DP, Friedrich JL, Spahic J, Knipe N, Mang H, Leonard EC, et al. Impaired endothelial proliferation and mesenchymal transition contribute to vascular rarefaction following acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 300: 721-733.
51. Faller DV. Endothelial cell responses to hypoxic stress. *Clin Exp Pharmacol. Physiol* 1999; 26: 74-84.
52. Legrand M, Mik EG, Johannes T, Payen D, Ince C. Renal hypoxia and dysoxia after reperfusion of the ischemic kidney. *Molecular medicine (Cambridge Mass.)* 2008; 14: 502-516.

53. Molitoris BA, Sutton TA. Endothelial injury and dysfunction: role in the extension phase of acute renal failure. *Kidney international* 2004; 66: 496-499.
54. Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Acute renal failure. *Lancet* 2005; 365: 417-430.
55. Blantz RC, Deng A, Miracle CM, Thomson SC. Regulation of kidney function and metabolism: a question of supply and demand. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2007; 118: 23-43.
56. Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion--from mechanism to translation. *Nat Med* 2011; 17: 1391-1401.
57. Thurman JM. Triggers of inflammation after renal ischemia/ reperfusion. *Clin Immunol* 2007; 123: 7-13.
58. Jang HR, Ko GJ, Wasowska BA, Rabb H. The interaction between ischemia-reperfusion and immune responses in the kidney. *J Mol Med (Berl)* 2009; 87: 859-864.
59. Koo DD, Welsh KI, West NE, Channon KM, Penington AJ, Roake JA, et al. Endothelial cell protection against ischemia/reperfusion injury by lecithinized superoxide dismutase. *Kidney Int* 2001; 60: 786-796.
60. He CJ, Peraldi MN, Adida C, Rebibou JM, Meulders Q, Sraer JD, et al. Thrombin signal transduction mechanisms in human glomerular epithelial cells. *J Cell Physiol* 1992; 150: 475-483.
61. Chambers RC, Laurent GJ. Coagulation cascade proteases and tissue fibrosis. *Biochem Soc Trans* 2002; 30: 194-200.
62. Grandaliano G, Monno R, Ranieri E, Gesualdo L, Schena FP, Martino C, et al. Regenerative and proinflammatory effects of thrombin on human proximal tubular cells. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 1016-1025.
63. Gui Y, Loutzenhiser R, Hollenberg MD. Bidirectional regulation of renal hemodynamics by activation of PAR1 and PAR2 in isolated perfused rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285: 95-104.
64. Erlich JH, Boyle EM, Labriola J, Kovacich JC, Santucci RA, Fearn C, et al. Inhibition of the tissue factor-thrombin pathway limits infarct size after myocardial ischemia-reperfusion injury by reducing inflammation. *Am J Pathol* 2000; 157: 1849-1862.

65. Hölschermann H, Bohle RM, Schmidt H, Zeller H, Fink L, Stahl U, et al. Hirudin reduces tissue factor expression and attenuates graft arteriosclerosis in rat cardiac allografts. *Circulation* 2000; 102: 357-363.
66. Farivar AS, Delgado MF, McCourtie AS, Barnes AD, Verrier ED, Mulligan MS. Crosstalk between thrombosis and inflammation in lung reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 2006; 81: 1061-1067.
67. Favreau F, Thuillier R, Cau J, Milin S, Manguy E, Mauco G, et al. Anti-thrombin therapy during warm ischemia and cold preservation prevents chronic kidney graft fibrosis in a DCD model. *Am J Transplant* 2010; 10: 30-39.
68. Giraud S, Thuillier R, Belliard A, Hebrard W, Nadeau C, Milin S, et al. Direct thrombin inhibitor prevents delayed graft function in a porcine model of renal transplantation. *Transplantation* 2009; 87: 1636-1644.
69. Lattenist L, Jansen MP, Teske G, Claessen N, Meijers JC, Rezaie AR, et al. Activated protein C protects against renal ischaemia/reperfusion injury, independent of its anticoagulant properties. *Thromb Haemost* 2016; 116: 1.
70. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J* 1995; 9: 526-533.
71. Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS* 2007; 115: 81-103.
72. Cherubini A, Ruggiero C, Morand C, Lattanzio F, Dell'aquila G, Zuliani G, et al. Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke. *Curr Med Chem* 2008; 15: 1236-1248.
73. Virág L, Szabó C. The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacol Rev* 2002; 54: 375-429.
74. Sies H, Cadenas E. Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philos Trans.R Soc* 1985; 311: 617-631.
75. Lopez-Alarcona C, Denicola A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular based assays. *Anal Chim Acta* 2013; 763: 1-10.
76. Poljsak B, Jamnik P, Raspor P, Pesti M. Oxidation-antioxidation-reduction processes in the cell: impacts of environmental pollution. N. Jerome (Ed.), *Encyclopedia of Environmental Health*, Elsevier, 2011; 300-306.

77. Poljsak B, Šuput D, Milisav I. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxid Med Cell Longev* 2013; 2013 : 956792.
78. Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR, De B. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *Int J Pharm Sci Res* 2010; 3: 91-100.
79. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001; 54: 176-186.
80. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev* 2014; 2014: 360438.
81. Frankel EN, Neff WE. Formation of malonaldehyde from lipid oxidation products. *Biochim Biophys Acta* 1983; 754: 264-270.
82. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and Biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine* 1991; 11: 81–128.
83. Wang X, Lei XG, Wang J. Malondialdehyde regulates glucose- stimulated insulin secretion in murine islets via TCF7L2-dependent Wnt signaling pathway. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 382: 8–16.
84. Garcia-Ruiz I, de la Torre P, Diaz T, Esteban E, Fernandez I, Munoz T, et al. Sp1 and Sp3 transcription factors mediate malondialdehyde-induced collagen alpha 1(I) gene expression in cultured hepatic stellate cells. *J Biol Chem* 2002; 277(34): 30551–30558.
85. Blair IA. DNA adducts with lipid peroxidation products, *J Biol Chem* 2008; 283: 15545–15549.
86. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem & Cell Biol* 2007; 39: 44–84.
87. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine* 2018;54: 287–293.
88. Aslankoc R, Gumral N, Saygın M, Senol M, Asçı H, Cankara FN, Comlekci S. The impact of electric fields on testis physiopathology, sperm parameters and DNA integrity—The role of resveratrol. *Andrologia* 2018; 50: 12971.

89. Postaci I, Coskun O, Senol N, Aslankoc R, Comlekci S. The physiopathological effects of quercetin on oxidative stress in radiation of 4.5 g mobile phone exposed liver tissue of rat. *Bratisl Lek Listy* 2018; 119: 481-489.
90. Lotito SB, Fraga CG. (+)-Catechin prevents human plasma oxidation. *Free Radic Biol Med* 1998; 24: 435-441.
91. Kojo S. Vitamin C: Basic metabolism and its function as an index of oxidative stress. *Curr Med Chem* 2004; 11: 1041–1064.
92. Saygin M, Ozmen O, Erol O, Ellidağ HY, Ilhan I, Aslankoc R. The impact of electromagnetic radiation (2.45 GHz, Wi-Fi) on the female reproductive system: The role of vitamin C. *Toxicol Ind Health* 2018; 34: 620-630.
93. Cosens DJ, Manning A. Abnormal electroretinogram from a *Drosophila* mutant. *Nature* 1969; 224: 285–287.
94. Nilius B. Transient receptor potential (TRP) cation channels: rewarding unique proteins. *Bull Mem Acad R Med Belg* 2007; 162: 244–253.
95. Clapham DE. TRP channels as cellular sensors. *Nature* 2003; 426: 517-524.
96. Miller BA. The role of TRP channels in oxidative stress-induced cell death. *J Membr Biol* 2006; 209: 31-41.
97. Venkatachalam K, Montell C. TRP channels. *Annu Rev Biochem* 2007; 76: 387-417.
98. Hsu YJ, Hoenderop JG, Bindels RJ. TRP channels in kidney disease. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1772: 928-36.
99. Fujiwara Y, Minor DL. X-ray Crystal structure of a TRPM assembly domain reveals an antiparallel four-stranded coiled-coil. *J Mol Biol* 2008; 383: 854–870.
100. Jimenez I, Prado Y, Marchant F, Otero C, Eltit F, Cabello-Verrugio C, Cerda O, Simon F. TRPM Channels in Human Diseases. *Cells* 2020; 9: 2604.
101. Yamamoto S, et al. TRPM2-mediated Ca^{2+} influx induces chemokine production in monocytes that aggravates inflammatory neutrophil infiltration. *Nat Med* 2008; 14: 738–747.
102. Zhao J, Lin King JV, Paulsen CE, Cheng Y, Julius D. Irritant-evoked activation and calcium modulation of the TRPA1 receptor. *Nature* 2020; 585: 141–145.
103. Matta J.A., Cornett P.M., Miyares R.L., Abe K., Sahibzada N., Ahern G.P. General anesthetics activate a nociceptive ion channel to enhance pain and inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 8784–8789.

- 104.** Leffler A, Lattrell A, Kronewald S, Niedermirtl F, Nau C. Activation of TRPA1 by membrane permeable local anesthetics. *Mol Pain* 2011; 7: 62.
- 105.** Trevisani M., Siemens J., Materazzi S., Bautista D.M., Nassini R., Campi B., et al. 4-Hydroxynonenal, an endogenous aldehyde, causes pain and neurogenic inflammation through activation of the irritant receptor TRPA1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:13519–13524.
- 106.** Wu CK, Wu CL, Lee TS, Kou YR, Tarng DC. Renal tubular epithelial TRPA1 acts as an oxidative stress sensor to mediate ischemia-reperfusion-induced kidney injury through MAPKs/NF-kB signaling. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 2309.
- 107.** Butterworth JF, Mackey DC, Wasnick JD. Kardiyovasküler monitorizasyon. Cuhruk FH (Çeviren). Morgan & Mikhail Klinik Anesteziyoloji. 6. Baskı, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2021: 239-253.
- 108.** Billings FT 4th, Chen SW, Kim M, Park SW, Song JH, Wang S, et al. alpha2-Adrenergic agonists protect against radiocontrast-induced nephropathy in mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 295: 41-48.
- 109.** Cai Y, Xu H, Yan J, Zhang L, Lu Y. Molecular targets and mechanism of action of dexmedetomidine in treatment of ischemia/reperfusion injury. *Mol Med Rep* 2014; 9: 1542-1550.
- 110.** Chiu TH, Chen MJ, Yang YR, Yang JJ and Tang FI: Action of dexmedetomidine on rat locus coeruleus neurones: intracellular recording in vitro. *Eur J Pharmacol* 1995; 285: 261–268.
- 111.** Shirasaka T, Kannan H, Takasaki M. Activation of a G protein-coupled inwardly rectifying K⁺ current and suppression of I_h contribute to dexmedetomidine-induced inhibition of rat hypothalamic paraventricular nucleus neurons. *Anesthesiology* 2007; 107: 605–615.
- 112.** Marangoni MA, Hausch A, Vianna PT, Braz JR, Viero RM, Castiglia YM. Renal function and histology after acute hemorrhage in rats under dexmedetomidine action. *Acta Cir Bras* 2007; 22: 291-298.
- 113.** Liaño F, Pascual J. Epidemiology of acute renal failure: a prospective, multicenter, community-based study. Madrid Acute Renal Failure Study Group. *Kidney Int* 1996; 50: 811-818.
- 114.** Schwartz N, Hosford M, Sandoval RM, Wagner MC, Atkinson SJ, Bamburg J., BA Molitoris Ben. *J Physiol* 1999; 276: 544 - 551.

115. Caron A, Desrosiers RR, Béliveau 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.
116. Hoste EA, Clermont G, Kersten A, Venkataraman R, Angus DC, De Bacquer D, et al. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: A cohort analysis. *Crit Care* 2006; 10: 1-73.
117. Kellum JA, Unruh ML, Murugan R. Acute kidney injury. *BMJ Clin Evid* 2011; 2001: 1–36.
118. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1-40.
119. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak Derg.* 2004; 15: 91-96.
120. Blumberg J. Use of biomarkers of oxidative stress in research studies. *J Nutr* 2004; 134: 3188-3189.
121. Tejchman K, Kotfis K, Sieńko J. Biomarkers and Mechanisms of Oxidative Stress-Last 20 Years of Research with an Emphasis on Kidney Damage and Renal Transplantation. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 8010.
122. Wijnberger LDE, Krediet TG, Visser GHA, Van Bel F, Egberts J. Early neonatal antioxidant capacity after preexisting impaired placental function. *Early Hum Dev* 2003; 71: 111–116.
123. Eraslan E, Tanyeli A, Polat E, Polat E. 8-Br-cADPR, a TRPM2 ion channel antagonist, inhibits renal ischemia-reperfusion injury. *J Cell Physiol* 2019; 234: 4572-4581.
124. Ishii M, Shimizu S, Hara Y, Hagiwara T, Miyazaki A, Mori Y, et al. Intracellular-produced hydroxyl radical mediates H₂O₂-induced Ca²⁺ influx and cell death in rat beta-cell line RIN-5F. *Cell Calcium* 2006; 39: 487-494.
125. Viana F. Trpa1 channels: Molecular sentinels of cellular stress and tissue damage. *J Physiol* 2016; 594: 4151–4169.
126. Kanda Y, Yamasaki Y, Sasaki-Yamaguchi Y, Ida-Koga N, Kamisuki S, Sugawara F, et al. Trpa1-dependent reversible opening of tight junction by natural compounds with an alpha,beta-unsaturated moiety and capsaicin. *Sci Rep* 2018; 8: 2251.

127. Kun J, Szitter I, Kemeny A, Perkecz A, Kereskai L, Pohoczky K, et al. Upregulation of the transient receptor potential ankyrin 1 ion channel in the inflamed human and mouse colon and its protective roles. *PLoS One* 2014; 9: 108164.
128. Lowin T, Apitz M, Anders S, Straub RH. Anti-inflammatory effects of n-acylethanolamines in rheumatoid arthritis synovial cells are mediated by trpv1 and trpa1 in a cox-2 dependent manner. *Arthritis Res Ther* 2015; 17: 321.
129. Wu CK, Wu CL, Su TC, Kou YR, Kor CT, Lee TS, Tarng DC. Renal Tubular TRPA1 as a Risk Factor for Recovery of Renal Function from Acute Tubular Necrosis. *J Clin Med* 2019; 8: 2187.
130. Taoda M, Adachi YU, Uchihashi Y, Watanabe K, Satoh T, Vizi ES. Effect of dexmedetomidine on the release of [3H]-noradrenaline from rat kidney cortex slices: Characterization of alpha2-adrenoceptor. *Neurochem Int* 2001; 38: 317–322.
131. Curtis FG, Vianna PT, Viero RM, et al. Dexmedetomidine and S+-ketamine in ischemia and reperfusion injury in the rat kidney. *Acta Cir Bras* 2011; 26: 202–206.
132. Si YN, Bao HG, Xu L, Wang XL, Shen Y, et al. Dexmedetomidine protects against ischemia/reperfusion injury in rat kidney. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2014; 18: 1843-1851.
133. Loomba RS, Villarreal EG, Dhargalkar J, Rausa J, Dorsey V, Farias JS, Flores S. The effect of dexmedetomidine on renal function after surgery: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Pharm Ther* 2022; 47: 287-297.
134. Bayram A, Ulgey A, Baykan A, Narin N, Narin F, Esmoglu A, et al. The effects of dexmedetomidine on early stage renal functions in pediatric patients undergoing cardiac angiography using non-ionic contrast media: a double-blind, randomized clinical trial. *Paediatr Anaesth* 2014; 24: 426-432.
135. Simon F, Varela D, Cabello-Verrugio C. Oxidative stress-modulated TRPM ion channels in cell dysfunction and pathological conditions in humans. *Cell Signal* 2013; 25: 1614-1624.
136. Nassini R, Pedretti P, Moretto N, Fusi C, Carnini C, Facchinetti F, et al. Transient receptor potential ankyrin 1 channel localized to non-neuronal airway cells promotes non-neurogenic inflammation. *PLoS One* 2012; 7: 42454.