

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

**RATLARDA RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON
MODELİNDE UZAK İSKEMİK ÖN KOŞULLAMA VE
DEKSMEDETOMİDİNİN ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. CANSU BALCI

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2011

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

**RATLARDA RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON
MODELİNDE UZAK İSKEMİK ÖN KOŞULLAMA VE
DEKSMEDETOMİDİNİN ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. CANSU BALCI

Danışman Öğretim Üyesi

Yrd.Doç.Dr.MERT AKAN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
TABLO LİSTESİ.....	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iii
GRAFİK LİSTESİ.....	iv
RESİM LİSTESİ	v
KISALTMALAR	vi
ÖZET	1
SUMMARY	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1.İskemi.....	5
2.2.Reperfüzyon.....	9
2.3.Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarı.....	11
2.4.İskemik Ön Koşullama	13
2.5.Direkt İskemik Ön Koşullama	16
2.6.Uzak İskemik Ön Koşullama.....	16
2.7.Farmakolojik Koşullama.....	17
3.GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1 Anestezi Uygulaması	20
3.2 Deney Grupları ve Protokol	20
3.3 Deneysel Çalışma Modeli	21
3.4 Histomorfolojik İncelemeler	24
3.5 Dışlanma Kriterleri	25
3.6 İstatistiksel Değerlendirme	26
4.BULGULAR	27
5.TARTIŞMA	40
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	44
7.KAYNAKLAR	45
8.EKLER	55

TEŞEKKÜR

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

Tez çalışmamın her aşamasında desteğini ve anlayışını esirgemeyen, değerli vaktini cömertçe paylaşan, çok kıymetli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Mert Akan'a;

Tezimde emeği geçen Doç.Dr.Bekir Uğur Ergür; Doç Dr. Ensari Güneli, Prof.Dr.Belgin Ünal Toğrul, Uzm.Dr.Nilay Boztaş, Asistan Dr.Emine Aydın, Vet.Aslı Çelik'e ;

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

*Sevgisini ve desteğini hep hissettiren Canım Eşim Serdar'a
Bugünlere gelmemde büyük emeği olan Sevgili Anneciğim'e
Bugünlerimi keşke görseydi dediğim, doktor olmamı çok destekleyen Canım Babacığım'a*

*Bütün destekleri için tüm Aileme
Ve büyük bir sevgiyle içimde taşıdığım, varlığından destek aldığım, yakında doğacak Canım Kızım'a*

Sonsuz Teşekkürler...

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Gruplara ait histomorfolojik hasar skorları.....	27
Tablo 2. Grupların histomorfolojik hasar skorlarının anlamlılıklarının (p^a değeri) karşılaştırılması.....	28

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. İskemi reperfüzyon hasarı sonrası uzak organ hasarı oluşumu.....	6
Şekil 2. Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının sebepleri ve sonuçları	7
Şekil 3. Serbest oksijen radikalinin dokudaki doğrudan ve dolaylı etkileri	8
Şekil 4. İskemi reperfüzyon hasarında görülen olaylar dizisi	9
Şekil 5. İskemi reperfüzyon sonrası kapiller damardaki değişiklikler	11
Şekil 6. İskemik ve akut tübüler nekroz (ATN) patogenezinde rol oynayan faktörlerin şematik görünümü	12
Şekil 7. İskemik ön koşullamanın mekanizması	15
Şekil 8. Deney protokolünün şematik görünümü	21

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1. Böbrek histomorfolojik incelemesinde proksimal tübüluslardaki hasar skorları	29
Grafik 2. Böbrek histomorfolojik incelemesinde mononükleer hücre enfiltrasyonu skorları	30
Grafik 3. Böbrek histomorfolojik incelemesinde eritrosit ekstrasvazasyonu ve kapiller dilatasyon skorları	31
Grafik 4. Böbrek histomorfolojik incelemesinde histomorfolojik hasar toplam skorları	32

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Ratın böbrek kan akımının kesilmesi.....	22
Resim 2. Ratta İÖK öncesi bacak akımının lazer akımölçerle gösterilmesi	23
Resim 3. Ratın bacak kan akımının kesildiğinin lazer akımölçerle gösterilmesi	23
Resim 4. Böbrek dokusu sham grubuna ait H-E ile boyanmış kesit görüntüleri	33
Resim 5. Böbrek dokusu İR grubuna ait H-E ile boyanmış kesit görüntüleri	34
Resim 6. Böbrek dokusu İR grubuna ait H-E ile boyanmış kesit görüntüleri.....	34
Resim 7. Böbrek dokusu İR grubuna ait H-E ile boyanmış kesit görüntüleri.....	35
Resim 8. Böbrek dokusu İR grubuna ait H-E ile boyanmış kesit görüntüleri.....	35
Resim 9. Böbrek dokusu İR grubuna ait H-E ile boyanmış kesit görüntüleri.....	36
Resim 10. Böbrek dokusu İR+Deks grubuna ait H-E ile boyanmış kesit görüntüleri	36
Resim 11. Böbrek dokusu İR+Deks grubuna ait H-E ile boyanmış kesit görüntüleri	37
Resim 12. Böbrek dokusu UİÖK + İR grubuna ait H-E ile boyanmış kesit görüntüleri	37
Resim 13. Böbrek dokusu UİÖK + İR grubuna ait H-E ile boyanmış kesit görüntüleri	38
Resim 14. Böbrek dokusu Masson Trikrom ile boyanmış kesit görüntüleri.....	38
Resim 15. Böbrek dokusu Masson Trikrom ile boyanmış kesit görüntüleri.....	39

KISALTMALAR

İR:	İskemi-Reperfüzyon
SOR:	Serbest Oksijen Radikali
İÖK:	İskemik Ön Koşullama
MOF:	<i>Multiple Organ Failure</i> (Çoklu Organ Yetersizliği)
SIRS:	<i>Systemic Inflammatory Response Syndrome</i> (Sistemik Enflamatuvar Yanıt Sendromu)
ATP:	Adenozin Trifosfat
H₂CO₃:	Karbonik Asit
NO:	Nitrik Oksit
TxA₂:	Tromboksan A2
TNF-α:	Tümör Nekrozis Faktör Alfa
PMNL:	Polimorf Nüveli Lökosit
MNH:	Mono Nükleer Hücre
MPO:	Myeloperoksidaz
GFH:	Glomerüler Filtrasyon Hızı
NAS:	N-Asetilsistein
ET1:	Endotelin 1
ETA:	Endotelin A
ETB:	Endotelin B
cGMP:	Siklik Guanozin Monofosfat
cAMP:	Siklik Adenozin Monofosfat,
DİÖK:	Direkt İskemik Ön Koşullama
UİÖK:	Uzak İskemik Ön Koşullama
H-E:	Hematoksilen Eozin
HMGB-1:	<i>High Mobility Group Protein B1</i>
TLR-4:	<i>Toll-Like Receptor 4</i>
İ. P:	İntraperitoneal

ÖZET

Ratlarda Renal İskemi Reperfüzyon Modelinde Uzak İskemik Ön Koşullama ve Deksmetomidinin Etkilerinin Karşılaştırılması

Dr.Cansu BALCI, DEÜTF Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD, İZMİR

Amaç: Şok, böbrek transplantasyonu, kısmi nefrektomi gibi ürolojik girişimler, kardiyopulmoner *bypass*, sepsis gibi çeşitli klinik durumlarda ortaya çıkabilen iskemi reperfüzyon (İR) hasarı hastada ciddi organ yetersizliklerine neden olabilmektedir. İskemi reperfüzyon hasarını azaltmak amacıyla kullanılan yöntemlerden bazıları uzak iskemik ön koşullama (UİÖK) ve farmakolojik ard koşullamadır. Bu çalışmanın amacı; rat renal İR modelinde tek taraflı arka ekstremiteye uygulanacak UİÖK ile farmakolojik ard koşullama olarak deksmedetomidinin etkilerinin karşılaştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: DEÜTF Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra ağırlıkları 250-300 g arasında değişen 28 adet erkek Wistar albino rat her birinde yedişer denek olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Tüm gruplara genel anestezi altında laparotomi uygulandı ve sol renal pedikül diseke edildi. Grup I (*Sham*, n=7): Laparotomi sonrası sol renal pedikül diseke edilip başka bir girişim yapılmadan ratlar anestezi altında bekletildi. Grup II (İR, n=7): Laparotomi sonrasında sol böbreğe 45 dk. total iskemi sonrası 4 saat reperfüzyon uygulandı. Grup III (İR+ Deksmetomidin, n=7): Laparotomi sonrasında sol böbreğe İR uygulanırken reperfüzyonun beşinci dakikasında 100 µg/kg (yaklaşık 0.5-0.6 ml) deksmedetomidin intraperitoneal verildi. Grup IV (UİÖK+İR, n=7): Anestezi altında sol arka bacağa üç döngü 10 dk. iskemi ve 10 dk. reperfüzyon uygulanarak 5 dk. sonra sol böbrekte İR oluşturuldu. Tüm gruplarda ratların anestezi süresi eşit tutuldu, histomorfolojik değerlendirme için sol böbrek çıkarıldıktan sonra ratlar sakrifiye edildi.

Bulgular: Böbrek histomorfolojik hasar toplam skoru *Sham* grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0,01$). İskemi Reperfüzyon grubundaki histomorfolojik hasar toplam skorları İR+Deksmetomidin ve UİÖK+İR gruplarından anlamlı olarak yüksek saptandı ($p < 0,01$). Deksmetomidin ve UİÖK gruplarının hasar skorları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,89$).

Sonuç: Bu deneysel çalışmada, rat renal İR modelinde Deksmetomidin ve UİÖK'nin İR hasarını histomorfolojik olarak anlamlı düzeyde azalttığı saptanırken, Deksmetomidin+İR ve UİÖK+İR grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Anahtar Kelimeler: Böbrek, reperfüzyon hasarı, iskemik ön koşullama, deksmedetomidin

SUMMARY

The Effects of Remote Ischaemic Preconditioning and Dexmedetomidine in Rat Renal Ischaemia Reperfusion Injury Model

Dr.Cansu BALCI, Dokuz Eylul University, School of Medicine, Dept. of Anaesthesiology, IZMIR

Background: Ischaemia reperfusion (IR) injury which can develop after shock, renal transplantation, urological procedures as partial nephrectomy, cardiopulmonary bypass and sepsis may result in severe organ failures. Remote ischaemic preconditioning (RIP) and pharmacological postconditioning are the effective methods that can be used to prevent IR injury. The aim of this study was to evaluate the effects of RIP and dexmedetomidine as pharmacological postconditioning in the rat renal IR injury model.

Materials and Methods: After obtaining approval from the Institutional Ethics Committee, 28 Wistar albino male rats weighing approximately 250-300 g were divided into 4 groups. Laparotomy and renal pedicle dissection were performed to all groups under general anaesthesia. Group I (Sham, n=7): Laparotomy and renal pedicle dissection were performed and the rats were observed under anaesthesia without any intervention. Group II (IR, n=7): After laparotomy and 45 minutes of left renal pedicle occlusion, 4 hours of reperfusion was performed. Group III (IR+Dexmedetomidine, n=7): After laparotomy and while IR was being applied to left kidney, dexmedetomidine was administered intraperitoneally (100µg/kg -approx.0.5-0.6 mL) at the fifth minute of reperfusion. Group IV (RIP+IR, n=7): Under anaesthesia, three cycles of ischaemic preconditioning (10 min ischaemia and 10 min reperfusion) were applied to the left hind leg and after five minutes, renal IR was performed. Durations of anaesthesia were equal in all groups. All the rats were sacrificed after the left kidney was processed for conventional histomorphology.

Results: The total histomorphological renal injury score was significantly lower in the Sham group compared with the other groups ($p < 0.01$). The total renal injury score of IR group was significantly higher than the IR+Dexmedetomidine and RIP+IR groups ($p < 0.01$). There was no significant difference in total renal injury scores between the Dexmedetomidine and RIP groups ($p=0.89$).

Conclusions: In the present study, it was demonstrated histomorphologically that both Dexmedetomidine and RIP decreased renal IR injury significantly in this experimental model ; but, no significant difference was found between Dexmedetomidine and RIP groups.

Key words: Kidney, reperfusion injury, ischaemic preconditioning, dexmedetomidine

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi reperfüzyon (İR), doku veya organa giden kan akımında bir süre azalma veya kesilme sonrasında yeniden kanlanma olarak tanımlanır. Kan akımının tekrar başlaması dokulara iskemik hasardan daha fazla zarar verebilmektedir (1).

İskemik periyod süresince dokuda mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun değişmesi, adenozin trifosfat (ATP) azalması, hücre içi Ca^{+2} artışı ve hücre iskeleti ile membran fosfolipitlerinin bozulmasına öncülük eden proteaz ve fosfatazların aktive olması sonucu aşırı miktarda serbest oksijen radikali (SOR) oluşarak oksidatif strese neden olur (2,3). İskemi reperfüzyon hasarının fizyopatolojisinde SOR'lerin önemli rol oynadıkları bildirilmektedir (3,4) .

Temel başlatıcı patofizyolojik etken doku iskemisi olmakla birlikte, reperfüzyon, enflamasyona yol açmaktadır (5). Reperfüzyon sırasında SOR ve süperoksit radikalleri endotelial hasar, artmış mikrovasküler permeabilite ve doku ödemeine neden olmaktadır (6). Ayrıca aktive olan adezyon molekülleri ve sitokinler sistemik enflamatuvar yanıtı başlatabilir. Bu yanıtlar İR hasarı olarak tanımlanır(7).

Böbrek iskemisi; böbrek transplantasyonu, kısmi nefrektomi, kardiyopulmoner *bypass*, sepsis, ürolojik girişimler ve hidronefroz gibi çeşitli klinik durumlarda görülür. Renal İR hasarının altta yatan mekanizması kompleks bir tablo olup ATP tüketimi, intrasellüler Ca^{+2} ve SOR birikimi, mitokondriyal disfonksiyon, birçok litik enzim sistem aktivasyonu ve pro-enflamatuvar sitokin üretimini içerir. İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetersizliği ; glomerüler filtrasyon hızında (GFH) azalma, tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışıyla karakterizedir (8).

İskemi reperfüzyon hasarından korunmaya yönelik çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden en çok kullanılanlar iskemik ön koşullama (İÖK) ve farmakolojik koşullamadır. İskemik ön koşullama, kısa iskemik epizodları izleyen reperfüzyon periyodları ile dokunun arkadan gelen uzun süreli iskemiyeye dayanıklılığını artıran süreç olarak tanımlanmıştır (9). Yöntem ilk kez 1986 yılında Murry ve ark. (10) tarafından köpek kalbinde yapılan araştırma ile gösterilmiştir. Bir diğer yöntem uzak İÖK'dir. Bir organa uygulanan İR epizodları başka bir organda iskemiyeye karşı dayanıklılık sağlamaktadır; bu yöntem uzak iskemik ön koşullama (UİÖK) olarak adlandırılır (11). Uzak İÖK ilk olarak 1993'te kalpte gösterilmiştir (12). Uzak İÖK'nın iskelet kası, böbrek, akciğer, barsak, karaciğer ve beyinde İR ile indüklenmiş doku hasarını azalttığı gösterilmiştir (13-15).

İskemi reperfüzyon hasarını azaltmak ve önlemek için kullanılan bir diğer yöntem ise farmakolojik ön/ard koşullamadır. Bu amaçla farklı ilaçların kullanıldığı birçok deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda deksmedetomidin, N-asetilsistein (NAS), L-karnozin gibi ilaçların koruyucu(ön koşullama ve/veya tedavi edici (ard koşullama) etkinliği araştırılmış ve bu ajanların İR hasarını önlemede etkin olduğu gösterilmiştir (16-19).

Literatür taramalarımızda deneysel renal İR modelinde farmakolojik ard koşullama ile UİÖK'nin etkinlikleri arasındaki farkı araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu tez çalışmasında, deneysel rat renal İR modelinde deksmedetomidinle uygulanan farmakolojik ard koşullama ile tek taraflı alt ekstremiteye uygulanan UİÖK'nin etkilerinin karşılaştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

İskemi ve reperfüzyon, tıbbın pek çok alanında sık karşılaşılan klinik bir tablodur. Hipovolemik şok, yanık, sepsis, pankreatit gibi durumlar sonucunda ortaya çıkan iskeminin tedavisine bağlı olarak reperfüzyon hasarı oluşabilmektedir (20). Parsiyel nefrektomi ameliyatları, koroner arter *bypass* greftleme ve ürolojik bir takım girişimler böbrek iskemisine bağlı geri dönüşümsüz böbrek yetersizliği ile sonuçlanabilmektedir (8). Kardiyovasküler cerrahide aortik ya da periferik arteriyel klemp uygulaması sonrasında da bu uygulamanın sonlandırılması ile İR hasarı oluşabilir (20). Buna ek olarak vasküler, ortopedik ve rekonstrüktif cerrahide kullanılan turnike uygulaması iyatrojenik bir İR modeli olarak bilinmektedir. Oluşan hasar bu bölgede sınırlı kalmayıp, aktive olan birçok mekanizma ile ortaya çıkan toksik ürünler, başta akciğer olmak üzere kalp, beyin gibi uzak organlarda da hasar oluşturarak uzun süreli yoğun bakım izlemi gerektirebilen çoklu organ yetersizliği (*MOF*) gelişebilmektedir (21,22).

2.1 İskemi

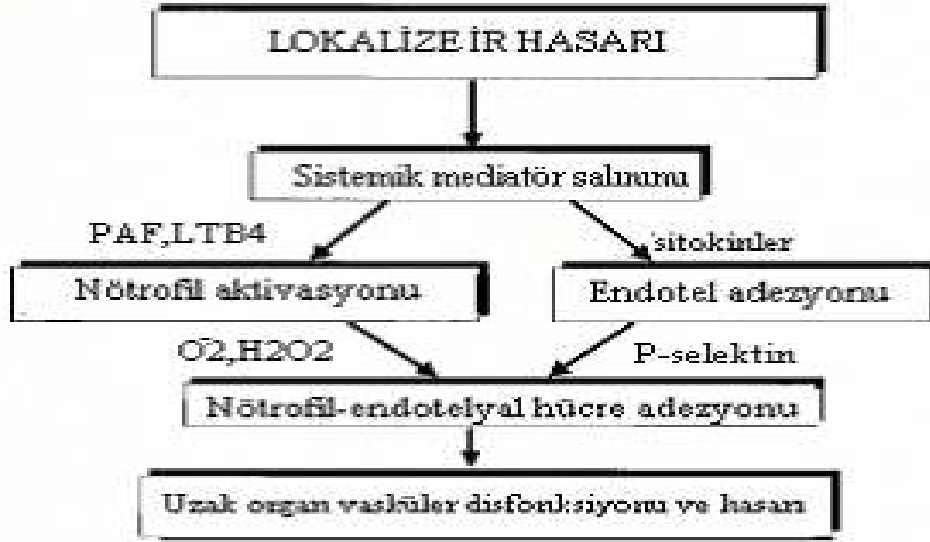
İskemi, organların kanlanmaması yani oksijen ve besin maddelerinin dokulara yeterli düzeyde ulaşamaması ve bu süreçte oluşan atık ürünlerin yine dolaşım tarafından uzaklaştırılamaması olarak tanımlanır. Bu olay, organı perfüze eden kan akımındaki azalmaya bağlı olarak gelişen geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre zedelenmesine yol açar (23).

İskemik hasarın derecesi hipoksinin derinliğine ve şiddetine bağlıdır. İskemiye bağlı doku hasarında hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi hücre ölümüne yol açar (24,25). İskeminin neden olduğu patolojik süreçler sık karşılaşılan ve yaşamı tehdit eden durumlardır (23). İskemi, kardiyak enfarktüste ve inmede olduğu gibi akut veya kladikasyoda olduğu gibi kronik olabilir (24,25). İskemi sonrası kan akımının tekrar başlaması (reperfüzyon) paradoksal olarak iskeminin dokuda oluşturduğu hasardan daha fazla hasar oluşturur (5).

İskemi-reperfüzyon lokal-uzak etki ve komplikasyonlara neden olabilen bazı mekanizmaları tetikler (6). İskemik periyod süresince dokuda toksik SOR üretilir. Reperfüzyon sırasında serbest oksijen radikalleri ve süperoksit radikalleri endotelial hasar, artmış mikrovasküler permeabilite ve doku ödemeine neden olmaktadır (5,6). Ayrıca

aktive olan adezyon molekülleri ve sitokinler sistemik enflamatuvar yanıt sendromunu (SIRS) başlatabilir. Bu yanıtlar İR hasarı olarak tanımlanır (6).

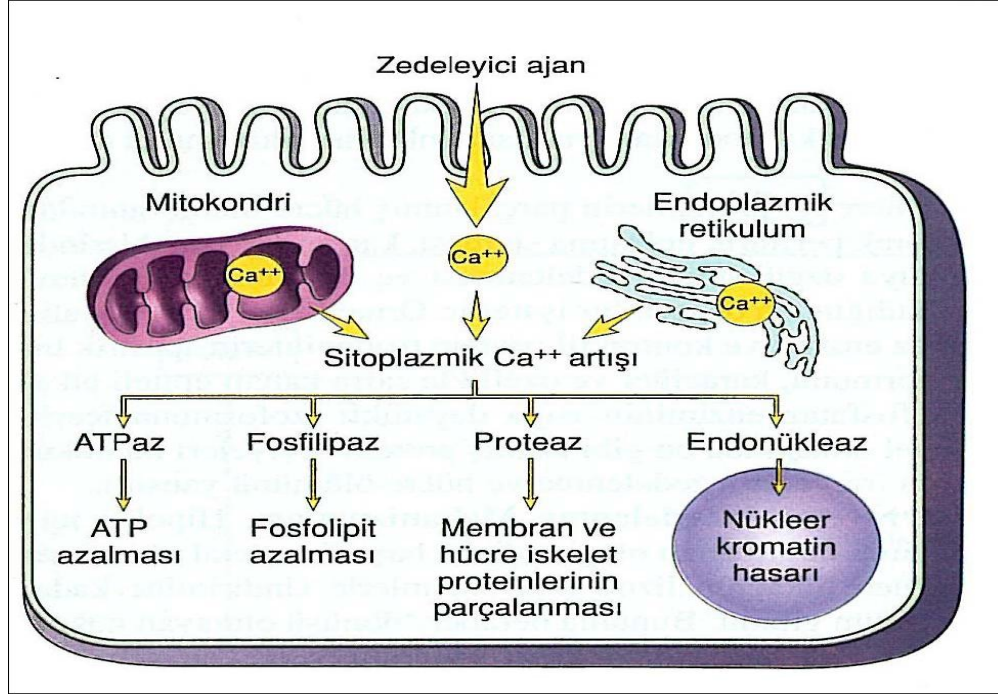
İskemi-reperfüzyon sonrası oluşan hasar diğer organları da etkileyebilir. İskemi reperfüzyonun uzak organ etkileri sıklıkla akciğer ve kardiyovasküler sistemde görülmektedir. Uzak organ İR hasarı mekanizması Şekil 1’de gösterilmiştir (21).



Şekil 1. İskemi -reperfüzyon hasarı sonrası uzak organ hasarı oluşumu (21).

PAF: Trombosit Aktive Edici Faktör, LTB4: Lökotriyen B4, O₂⁻, H₂O₂: Oksijen radikalleri

İskemi sırasında hücre membranında bulunan Na⁺/K⁺ pompasının çalışması için gerekli olan enerji sağlanamaz. K⁺ iyonları hücre dışına çıkarken Na⁺ ve Cl⁻ iyonları da hücre içine girer. Bu iyonların hücre içine geçisi ile hücrede şişme meydana gelir. Anaerobik glikolizle ATP üretilmeye çalışılırken, laktik asit ve karbondioksit birikir. Karbondioksitin birikimi karbonik asit (H₂CO₃) üretimi ile sonuçlanır, böylece asidoz artar. İki dakikalık iskemi sonrasında özellikle beyin hücrelerinde ekstrasellüler pH 7.3’ten 6.7’ye kadar düşebilmektedir (26).

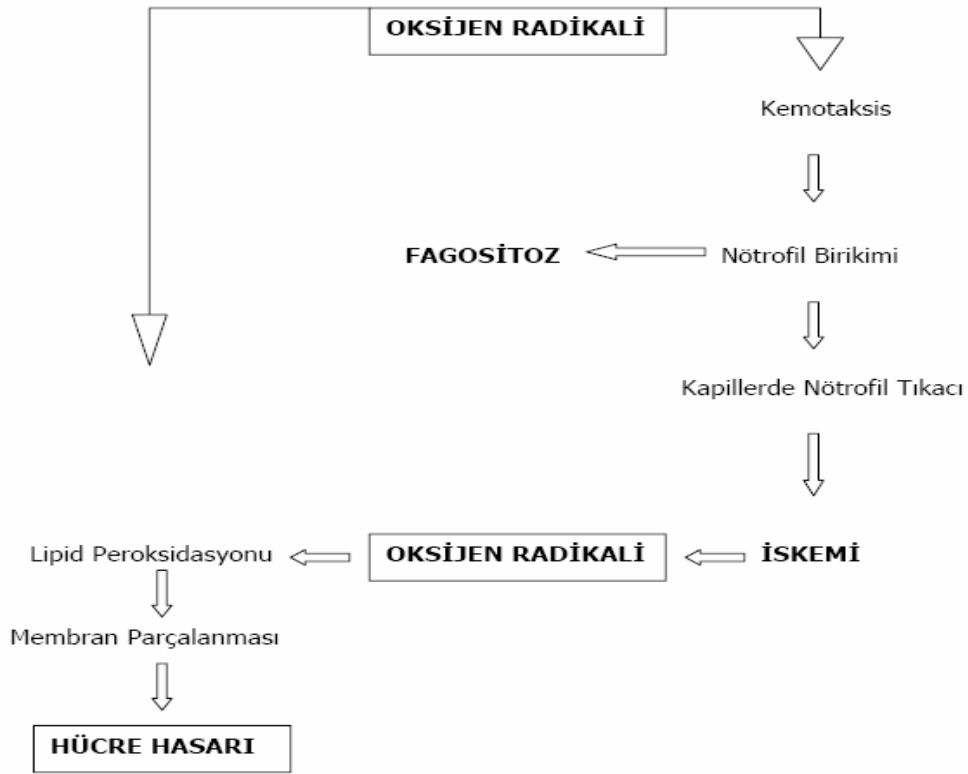


Şekil 2. Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının sebepleri ve sonuçları (27).

Adenozin trifosfat bağımlı çalışan diğer bir pompa ise ekstrasellüler ve intrasellüler Ca^{+2} 'u dengelemektedir (26) (Şekil 2). Hücre içerisindeki Ca^{+2} miktarındaki artış İR hasarında ilk olarak göze çarpan olaylardan biridir ve iskeminin süresi ile yakından ilişkilidir (28). Hücre içi Ca^{+2} 'un artması potansiyel zararlı etkilere sahip çok sayıda enzimin aktif hale gelmesine neden olur. İntrasellüler Ca^{+2} artışı ile fosfolipazlar ve proteolitik enzimler aktive olur. Fosfolipaz A_2 aktivasyonu ile membran fosfolipidleri bozulmaya başlar; plazma ve mitokondriyal membran biyoenerjetikleri ve geçirgenlikleri de değişir (29). Araşidonik asit fosfolipazların aktivasyonu sonucu oluşur. Araşidonik asit, direkt etkiyle mitokondriyal enzimleri inhibe ederek serbest radikal oluşumunu artırır (26).

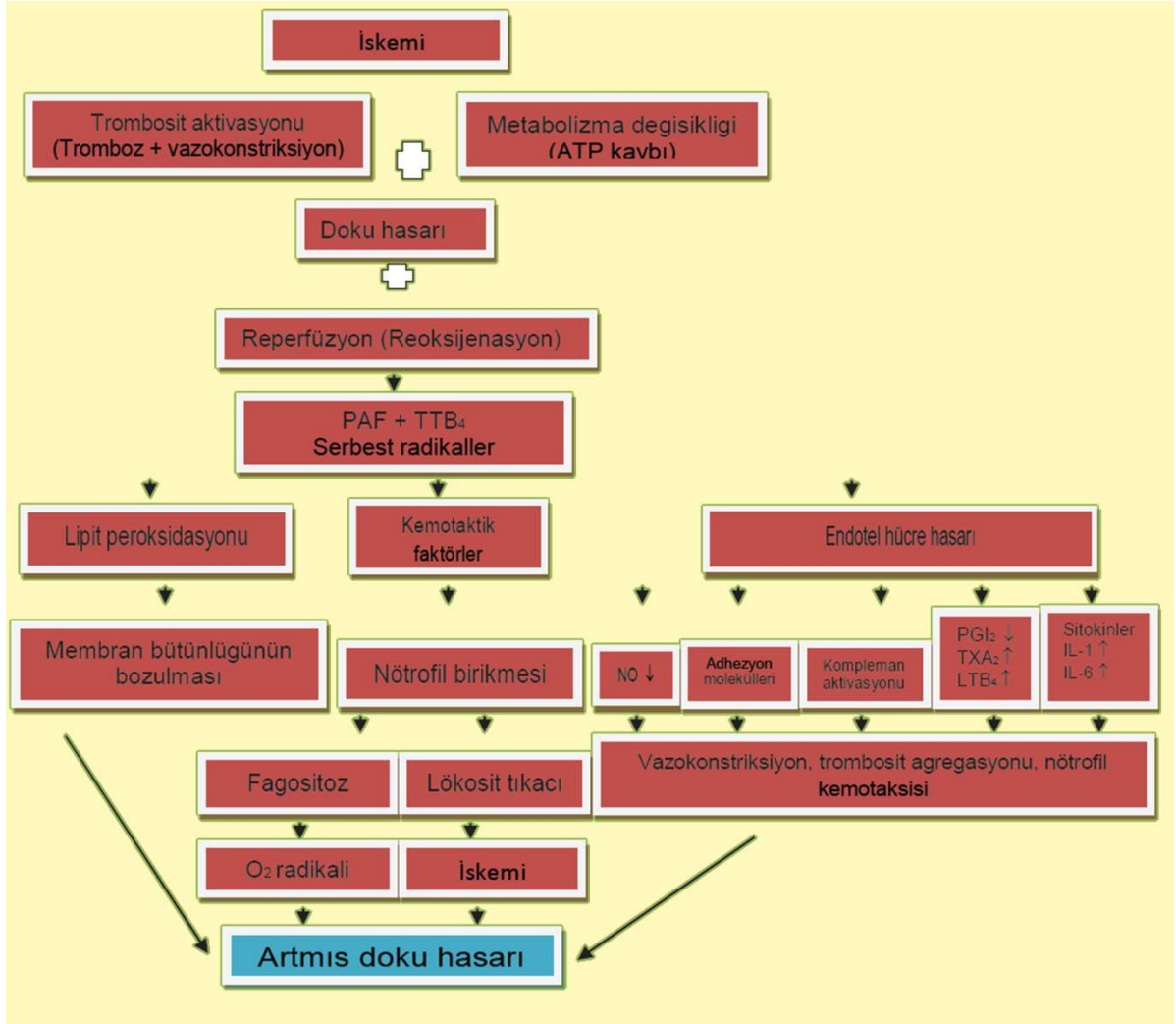
Serbest oksijen radikallerinin ilk oluşanı ve öncüsü genellikle stabil olmayan ve hidrojen peroksit (H_2O_2) ile oksijene dönüşen süperoksit (O_2^-) radikalidir (30). Fagositoz görevi yapan makrofaj, nötrofil ve monositler tarafından enzimatik olarak üretilirler. Hidrojen peroksit hücre membranlarından kolaylıkla geçebilen, endotelial hücreleri hasarlayabilen güçlü bir sitokindir. Hidroksil radikali, bilinen serbest radikaller içinde en güçlü olan ve doku hasarında sorumlu ana radikaldir (31). Bu radikalin en önemli özelliği, hidrojen atomlarını hücre membranındaki poliansatüre yağ asitlerinden ayırmasıdır. Lipid

peroksidasyonunu ile hücre membranında çözülme ve buna bağlı hücre ölümü olur (32). Hidroperoksil radikali ise $O_2^{\cdot -}$ radikalinin protonlanmasıyla oluşan ve süperoksitten daha güçlü olan bir ajandır. Biyolojik membranlardan kolay geçebilme ve yağ asitleriyle direkt olarak reaksiyona girebilme özelliği vardır (33) (Şekil 3).



Şekil 3: Serbest oksijen radikalinin dokudaki doğrudan ve dolaylı etkileri (34).

Uzamış hipoksi nedeniyle membran potansiyeli, iyon geçişi ve endotelial hücrelerin iskelet yapısı bozulmakta; ayrıca intrasellüler volüm artırmaktadır. Bu değişiklikler sonucunda enerji depoları ile prostasiklin ve nitrik oksit (NO) gibi bazı biyoaktif maddelerin yapımı azalır, endotelin ve tromboksan A_2 gibi maddelerin yapımı artar (21) (Şekil 4).



Şekil 4.İskemi reperfüzyon hasarında görülen olaylar dizisi (35).

Hücre içerisinde oluşan bu sitotoksik olaylar sonucunda ribozomlar granüllü endoplazmik retikulumdan ayrılır. Polizomlar monozomlara parçalanır ve protein sentezi azalır. Bu aşamadan sonra iskemi hala devam ederse geri dönüşümsüz zedelenme ortaya çıkar. Hasara, mitokondrilerde şiddetli vakuolizasyon ve matrikste kalsiyumdan zengin şekilsiz yoğunluk birikimi eşlik eder (27).

2.2 Reperfüzyon

İskemik dokudaki kan dolaşımının ilaçlarla veya mekanik müdahalelerle yeniden sağlanmasına reperfüzyon denir. Klinik olarak İR hasarı sıklıkla transplantasyon, iskemik serebrovasküler olay (*stroke*), miyokard enfarktüsü, şok/resüsitasyon ve turnike uygulamaları sonrasında görülmektedir (36). İskemi sonrası kan akımının tekrar başlaması paradoksal olarak iskeminin oluşturduğu hasarı artırır ve iskemik dokularda iskeminin

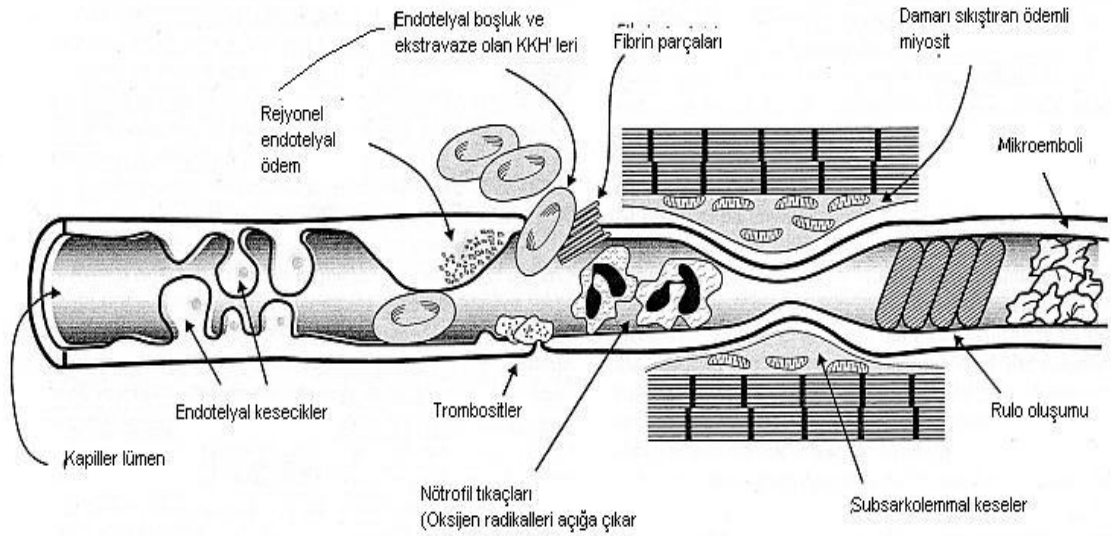
oluşturduğu hasardan daha fazla hasara yol açabilir (5,37). İskemi ve reperfüzyon periyotlarından oluşan bu zararlı etkilerin tümü İR hasarı olarak adlandırılır (1). İskemi-reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür.

Özellikle dört faktör hasarın başlıca nedenleri arasında yer almaktadır (35):

- 1) Serbest oksijen radikalleri,
- 2) Polimorf nüveli lökositler (PMNL),
- 3) Kompleman sistemi,
- 4) Endotel hücreleri

Reperfüzyon hasarının oluşmasında iki mekanizma etkilidir. Bu mekanizmalardan biri hidrolitik bir enzim olan fosfolipaz A₂'nin iskemik dönemde kalsiyum etkisiyle aktive olarak membranlardaki yağ asitlerini parçalaması ve diğer mekanizma ise serbest oksijen radikallerinin açığa çıkmasıdır (38). İskemik periyod süresince dokuda üretilen toksik SOR ve O₂⁻ radikalleri reperfüzyon sırasında endotelial hasar, artmış mikrovasküler permeabilite ve doku ödemeine sebep olmaktadır (5,6). Ayrıca aktive olan adezyon molekülleri ve sitokinler sistemik enflamatuvar yanıtı başlatabilir (6).

Araşidonik asitten oluşan lökotrienler trombosit ve lökositlerin, süperoksit ise lökositlerin damar duvarına adezyonunu artırır (5,21). Enflamatuvar olaylarda salınan tümör nekrosis faktör alfa (TNF- α), İR hasarında önemli yeri olan mikrovasküler disfonksiyona neden olur. Permeabilitedeki artış proteinlerin interstisyuma ekstravaze olmasına neden olmakta, bu da ödemle sonuçlanmaktadır (15). Şekil bozukluğu olan, adezyona ve migrasyona uğrayan lökosit sayısında, İR sonrası çok büyük artışlar olduğu gösterilmiştir (5,21,36). Ayrıca fonksiyonel kapiller damar sayısında azalma olduğu saptanmıştır (5,26) (Şekil 5).



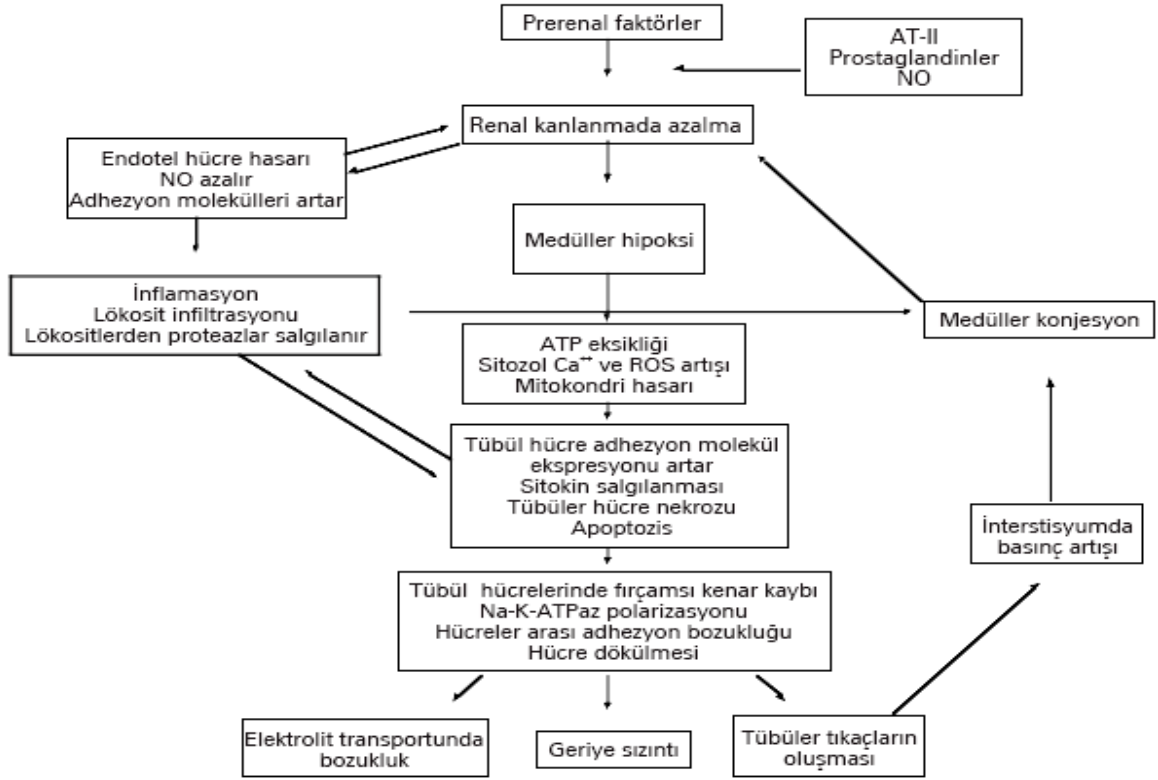
Şekil 5. İskemi reperfüzyon sonrası kapiller damardaki değişiklikler (KKH:Kırmızı Kan Hücreleri) (26).

2.3 Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarı

İskemi-reperfüzyon hasarı renal transplantasyon ve septik şokla ilişkili akut renal yetmezlik gelişiminde en önemli patolojik mekanizmalardan biridir (39). İskemi reperfüzyon hasarına sekonder akut renal yetersizlik kötü prognoz ve yüksek mortalite oranı ile ilişkilidir (40). Hayvan ve insan modellerinde uzamış iskeminin renal kan akımında ve glomerüler filtrasyon hızında (GFH) azalmayla sonuçlandığı gösterilmiştir (41). İskemik akut renal yetersizlik, yetersiz kan akımıyla başlar. Yetersiz kan akımı da azalmış kardiyak debi yanında renal arter stenozu ya da tıkanıklığı veya intrarenal küçük damarların ateroskleroz, ateroemboli, vaskülit gibi nedenlerle hasarlanması sonucu gelişir (39).

Böbreklerdeki İR hasarının mekanizması multifaktöriyel ve birbirine bağlı hipoksi, serbest radikal hasarı ve enflamatuvar cevaplarla ilişkilidir (42,43)(Şekil 6).

İskemik böbrekte vazodilatatör maddelerin etkisine karşı bir direnç, vazokonstriktör maddelerin etkisine karşı da aşırı duyarlılık vardır. Oksijenlenmenin bozulması ile artan intrasellüler Ca^{+2} birikimi afferent arteriyollerdeki direnç artışına neden olur (45).



Şekil 6. İskemik ve akut tübüler nekroz (ATN) patogenezinde rol oynayan faktörlerin şematik görünümü (44).

NO: Azot Monoksit , AT-II: Anjiyotensin, ROS: Serbest Oksijen Radikalleri

Aktive nötrofiller İR'nin indüklediği endotelial hücre hasarlanmasıyla oluşan renal hasar patogenezinde rol oynar ve böylece renal kan akımı azalır (46). Ayrıca renal İR'a maruz bırakılan hayvanlarda azalmış GFH'ye glomerüllerde biriken fibrin depozitleri de katkıda bulunur (47,48).

TNF- α üretimi İR'nun indüklediği renal hasarı artırır (49). TNF- α , nötrofilleri aktive eder. Renal kan akımında azalma yüksek enerjili fosfatların azalması ve hücre membranından iyon geçişinin bozulması sonucu hücre hasarıyla sonuçlanır. Hasarın ciddiyeti iskeminin süresine ve kollateral dolaşımın yeterliliğine bağlıdır. Böbreğe kan akımının yeniden sağlanmasıyla akım korteksten medullaya doğru yön değiştirir, böylece kortikal perfüzyon ve glomerüler filtrasyonun bozulması pahasına metabolik olarak hassas olan medullanın oksijenasyonu korunur (50).

Normal fizyolojik şartlarda oksijen parsiyel basıncı korteksten medullaya doğru inildikçe azalmaktadır. Böbreğin İR hasarı öncelikle böbreğin hipoksiye duyarlı olduğu medullasından başlar. Böbreğe gelen kan akımının büyük kısmı renal korteksten geçer ve

renal medullanın kanlanması sağlayan vaza rektaya çok az kan gider; bu da renal medüllayı hipoksiye daha duyarlı hale getirir (45,51,52). İskemik hasar tübüler disfonksiyona ve sodyum geri emiliminde azalmaya neden olur; böylece distal kısımlara giden sodyum miktarı artar, glomerüler vazokonstriksiyon ve glomerüler filtrasyonda azalmaya sebep olan tübüloglomerüler *feedback* denen refleksin aktifleşmesi sağlanır. Medüller hipoksi ayrıca hücresel enerji depolarının azalmasına, endotel ve düz kas hücrelerindeki aktin hücre iskeletinin bozulmasına neden olur. Bu da hücresel şişme ve çevre dokularda hipoksinin artmasına yol açar (51). Hücrelerde aktin hücre iskeleti yapısında da bozulma izlenir. Bu bozulma kan akımındaki değişikliklerde de rol oynamaktadır. Tübüler hücrelerde izlenen bu değişiklikler proksimal tübül hücrelerinin fırçamsı kenarlarının ve hücrelerin bazal membrandan koparak tübül lümenine dökülmesine ve tübül lümeninde tıkanmaya sebep olur (45,51). Tübüler hasar gelişimindeki bir diğer mekanizma da oksidatif strestir. Proksimal tübül hücrelerinin metabolik açıdan yoğun olmaları, ATN sırasında mitokondriyal hasar ve intrasitoplazmik Ca^{+2} artışı nedeniyle, oksidatif moleküller fazla miktarlarda oluşur (45,51,52).

Hipoksinin devam etmesi ve enflamatuvar cevap, akut böbrek yetersizliğinin (ABY) uzama fazında rol oynar. Akut tübüler nekrozun başlangıcındaki iskemik olay düzelse bile kan akımı bozuklukları ATN geliştikten sonra da devam etmektedir. Reperfüzyon sırasında kan akımında % 40-50 oranında azalma devam eder. Kan akımındaki bu azalma tam açıklanamamakla birlikte endojen vazokonstriktörlere karşı antagonistler kullanıldığı zaman kan akımının düzeldiğine dair bulgular rapor edilmiştir. Hayvan modellerinde endotel geçirgenliğinin iskemik ABY sonrasında arttığı bilinmektedir. Gelişen interstisyel ödem kan akımını, medulladaki damarlara bası uygulayarak daha da bozabilmektedir. Bu durum lökositlerin endotel hücreleri ile karşılaşması olasılığını artırmaktadır. Eritrositler ve lökositlerin medullada biriktikleri deney hayvanlarında gösterilmiştir (45,53,54,58).

2.4 İskemik Ön Koşullama

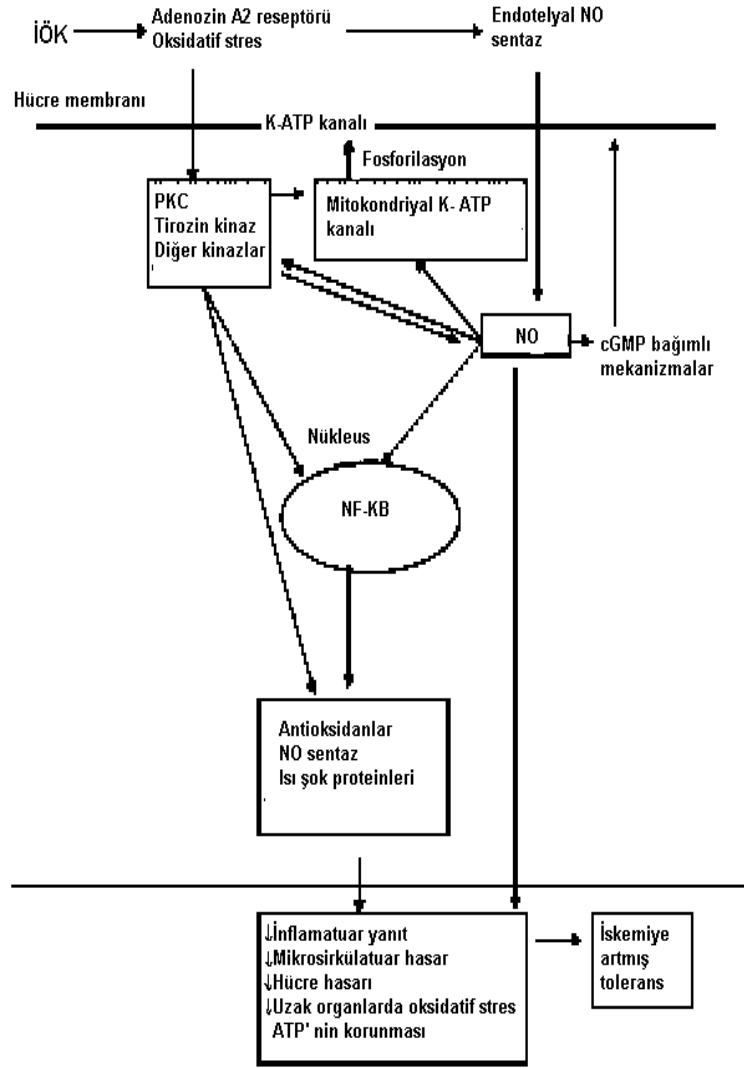
Organlar kısa süreli iskemi ve reperfüzyona maruz bırakıldıklarında, ardından gelen uzun süreli iskemi sonrası reperfüzyonda hasar daha az olmaktadır. Bu durum iskemik ön koşullama olarak adlandırılmaktadır (9). Yöntem ilk kez 1986 yılında Murry ve ark. tarafından köpek kalbinde yapılan araştırma ile gösterilmiştir (10). Kalpte 40 dk.lık tek bir iskemiye takiben ciddi bir ATP düşüşü ve hücre ölümü olduğu halde dört kez

tekrarlanan 10 dk.lık İR periyodunun İR hasarını azalttığı gösterilmiştir. Bu koruyucu etkinin mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte takip eden iskemi periyodlarında ilk iskemi dönemine göre ATP düşüşünde azalma olduğu, ayrıca laktat, H^+ ve NH_3 gibi zararlı maddelerin her perfüzyonla birlikte ortamdan uzaklaştırıldığı gösterilmiştir. İskemik ön koşullamada en önemli hedef son-organ olasılıkla vasküler endoteldir (55,56,59).

Başta kalp (10) olmak üzere İÖK' nın çeşitli doku ve organlarda (iskelet kası, böbrek, akciğer, barsak, karaciğer ve beyin) İR ile indüklenmiş doku hasarını azalttığı gösterilmiştir (13,14,15,60,61,62).

İskemik ön koşullama böbrek transplantasyonu veya cerrahisi sırasında renal hasarı azaltmada rol almaktadır (63). Ön koşullamanın koruyucu etkisinde kininlerin (60), ATP duyarlı K^+ kanallarının (65), adenosin A_1 reseptörlerinin (66), protein kinaz C (PKC) aktivasyonunun (67) ve ısı şok proteinlerinin (68,69) rolü araştırılmıştır.

Tam olarak netleşmemekle birlikte İÖK etki mekanizmasında en çok adenosin, PKC, ısı şok proteinleri ve NO üzerinde durulmuştur (7) (Şekil 7).



Şekil 7. İskemik ön koşullamanın mekanizması. (7).

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

İskemik ön koşullamanın koruyucu etkisi, iskemi süresi ve kaç döngü İR yapıldığı ile de ilişkilidir. Kalpte 60 dk.ya kadar iskemide İÖK'nin etkili olduğu, 90 dk. üzerindeki iskemide etkisinin sınırlandığı gösterilmiştir (15). Döngü sayısı, İÖK'nin oluşturduğu korumanın etkinliği ile ilişkili bulunmuştur. İskelet kasında yapılan çalışmalarda üç döngü ile en iyi sonuç alınmıştır (70). Renal İÖK'de tek olana göre çoklu ön koşullama protokollerinin renal İR hasarına karşı daha iyi koruduğu bildirilmiştir (71).

İskemik ön koşullamanın böbrek İR hasarına karşı koruyucu etkisi hakkındaki bilgiler kısıtlı ve tartışmalıdır.(60,72,73) İskemik ön koşullamanın intrarenal hemodinamik

etkileri, iskemik periyottaki adenosin ve adenin nükleotidlerinin renal interstisyel konsantrasyonlarının azalma mekanizması da bilinmemektedir (71).

Ön koşullamanın hem siklik guanozin monofosfat (cGMP) hem de siklik adenosin monofosfat (cAMP) düzeylerinde artışa neden olduğu gösterilmiş olup İÖK da tetikleyici rolleri olabileceği düşünülmüştür (74).

Dokuda İÖK sonrası ATP'nin stabil kaldığı, adenosin, ksantin ve inozinin ise arttığı bulunmuştur (75). Başka bir deneysel çalışmada ise İÖK grubunda reperfüzyon sonrası ATP'de hızlı bir artış olduğu saptanmıştır (76).

Glikoliz ve ATP yıkımının, bunun sonucunda da laktat oluşumunun İÖK ile azaldığı bulunmuştur. ATP miktarının korunması azalmış ATP kullanımı ile ilgilidir, bu da İÖK'nin enerji koruyucu mekanizmaları tetiklediğini düşündürmektedir (77).

2.5 Direkt İskemik Ön Koşullama

İskemi uygulanacak organa uzun süreli iskemi öncesi kısa süreli iskemi-reperfüzyon periyodlarının uygulanmasıdır.

Böbrekte direkt İÖK farklı yöntemlerle uygulanabilir:

- 1.Renal arter klemplenmesi (60,63)
- 2.Renal pedikül klemplenmesi (78)

2.6 Uzak İskemik Ön Koşullama

Bir organa uygulanan iskemi reperfüzyon epizodları başka bir organda iskemiye karşı dayanıklılık sağlamaktadır; bu yöntem UİÖK olarak adlandırılır (11). Uzak İÖK ilk olarak 1993'te kalpte gösterilmiştir (12). Deneysel ve klinik araştırmalar kalbe uygulanan İÖK'nin kalp dışında akciğer ve diğer organlarda İR hasarını azalttığını göstermiştir. Uzak İÖK'nin mekanizmasında adenosin, bradikinin, norepinefrin ve ATP bağımlı K^+ kanallarının rol oynadığı düşünülmektedir (79,80).

Cheung ve ark. (31) kardiyak cerrahi geçiren çocuklarda, alt ekstremiteye uygulanan İÖK'nin (beşer dk.lık dört döngü) miyokard fonksiyonuna etkilerini araştırmışlar ve UİÖK grubunda miyokard fonksiyonunun daha iyi, miyokard hasarının ise daha az olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada kısa periyodlar halindeki ekstremitte iskemisinin miyokarddaki enfarkt alanını %50 oranında azalttığı gösterilmiştir (79).

Renal arter İÖK'si ile miyokarddaki koruyucu etkinin araştırıldığı bir çalışmada oluşan koruyucu etkinin adenosin reseptör antagonisti ile ortadan kalktığı bulunmuştur (5).

Kharbanda ve ark. (79) yaptıkları deneysel çalışmada alt ekstremiteye uygulanan beşer dk.lık dört döngü İÖK'nin, miyokard iskemisi sonrası ejeksiyon fraksiyonundaki azalmayı belirgin olarak önlediği ve miyokard enfarkt alanını anlamlı olarak küçülttüğünü bulmuşlardır. Harkin ve ark. (82) bilateral, Olguner ve ark. (6) ise tek taraflı uygulanan alt ekstremita İÖK'nin akciğerde oluşan İR hasarını engellediğini göstermişlerdir. Karaciğer İÖK'sinin böbrek iskemisi üzerine etkileri araştırılan deneysel araştırmada, İÖK uygulanan hayvanlarda lipid peroksidasyonunun uygulanmayanlara göre daha düşük olduğu bulunmuştur (83). Bu olumlu etkinin NO ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (21).

Uzak İÖK'nin miyokard koruyucu etkisinin olasılıkla otonom sinir sistemi ve/veya hormonal faktörler ile olduğu belirtilmiştir (84). İskelet kasının İÖK'sinde salınan opioidler tüm iskelet kaslarını koruyan bir etkiyi tetiklemektedir. İskelet kasına benzer şekilde, mezenter arter oklüzyonu ile sağlanan miyokarddaki koruyucu etkinin naloksan ile ortadan kalktığı gösterilmiştir (85).

Şahin ve ark. (22) yaptıkları deneysel çalışmada alt ekstremiteye uygulanan 10 dk.lık 3 döngü uzak İÖK ile karaciğere uygulanan 10 dk.'lık tek döngü direkt İÖK'yi karşılaştırmışlar ve uzak İÖK'nin direkt İÖK'ya göre karaciğer İR hasarını önlemede daha etkili olduğunu göstermişlerdir. Kanoria ve ark. (84) rat bacağına uygulanan üç döngü 10 dk. iskemi 10 dk. reperfüzyon şeklinde yaptıkları UIÖK'nin karaciğer İR hasarına etkisini inceledikleri çalışmalarında iki saat reperfüzyon sonunda İR grubunun ortalama arter basınçları ve periferik oksijen saturasyonlarının (FiO_2 artırılmış olmasına rağmen) UIÖK grubuna kıyasla anlamlı olarak daha düşük olduğunu bulmuşlardır.

2.7 Farmakolojik Ön/Ard Koşullama

İskemi reperfüzyon hasarını azaltmak ve önlemek için kullanılan bir diğer yöntem ise farmakolojik ön/ard koşullamadır. Bu amaçla farklı ilaçların kullanıldığı birçok deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda deksmedetomidin, N-asetilsistein (NAS), L-karnozin gibi ilaçların koruyucu(ön koşullama ve/veya tedavi edici (ard koşullama) etkinliği araştırılmış ve bu ajanların İR hasarını önlemede etkin olduğu gösterilmiştir (16-19).

Farklı birçok farmakolojik ajanın farklı noktalarda sinyal yollarını aktive ettiği ve böylece İÖK'yi taklit ettiği gözlemlenmiştir (86). Bu gözlemler İÖK'nin sağladığı etkileyici korumanın terapötik ajanlarla da sağlanabileceği düşüncesini oluşturmuştur (87,88).

İR hasarında deksmedetomidin(89), amlodipin (90), verapamil (91) gibi Ca^{++} kanal blokerleri, mannitol, anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri, E-vit, propranolol, NAS gibi antioksidanlar, prednizolon (92), aspirin, prostaglandin E2 gibi antienflamatuvarlar ve allopürinol (93), adenozin, antiproteazlar gibi serbest radikal inhibitörleri, eritropoetin (94) gibi çok sayıda koruyucu ajan farmakolojik ön/ard koşullamada denenmiştir (30,59,95).

Deksmedetomidin

Deksmedetomidin, farmakolojik olarak medetomidinin aktif bir dekstro-streoizomeri olan, α_2 -adrenerjik reseptörler üzerinde selektif ve spesifik agonistik etki oluşturan, yoğun bakımlarda sedasyon amacıyla kullanımı FDA tarafından onaylanmış, geniş spektruma sahip, sedatif ve analjezik etkili bir imidazol bileşiğidir (18).

Deksmedetomidin ile yapılan çalışmaların büyük kısmı ilacın sedatif ve analjezik etkilerine yöneliktir. İskemik ve toksik enflamatuvar yanıt modellerinde yapılmış sınırlı sayıdaki çalışmada, deksmedetomidinin antienflamatuvar etkinlik gösterdiği ve iskekiye karşı koruyucu olduğu belirlenmiştir (96).

Deksmedetomidinin etkileri birçok deneysel serebral iskeki modelinde araştırılmış; ratlarda inkomplet tavşanlarda ise fokal iskekiye karşı koruyucu olduğu rapor edilmiştir(97). Bu nöroprotektif etkide azalmış sempatik tonus ve N-Metil D-Aspartat reseptör aracılıklı iyon akışının inhibisyonu yanı sıra anti-apoptotik protein konsantrasyonlarındaki artışın sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (106).

Renal İR hasarında deksmedetomidinin etkisi ilk kez Koçoğlu ve ark. (19) tarafından çalışılmıştır. Bir saatlik komplet renal iskekiyi takiben reperfüzyonun 5. dakikasında 100 μ g/kg dozunda intraperitoneal (i.p.) yolla deksmedetomidin uygulayan bu çalışmacılar 45 dakikalık reperfüzyon sonunda histolojik olarak renal hasarın önlendiğini göstermişlerdir. Deksmedetomidinin renal hasarı önleyici mekanizması kesinlik kazanmamakla birlikte böbreklerden presinaptik noradrenalin salınımının azalmış olması, strese bağlı olarak artan dolaşımdaki noradrenalin düzeylerinin düşmesi ile sağlanan glomerüler filtrasyon ve renal kan akımındaki düzelmenin etkili olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Deksmedetomidin cerrahi sırasında uygulandığında katekolamin plazma düzeylerini düşürmekte (109,110) hemodinamik stabilite sağlamakta (111,112) ve idrar debisini artırmaktadır (113). Böylece endokrin-metabolik yanıtla bağlı oluşan renal değişiklikler de azalmış olmaktadır.

Villela ve ark. (103) köpeklerde deksmedetomidinin renal sistem ve vazopressinin plazma düzeylerine etkilerini araştırdıkları bir deneysel çalışmada deksmedetomidinin düşük dozlarının (1-2 µg/kg yükleme dozunu takiben 1-2 µg/kg'lık bir saatlik intravenöz (i.v.) infüzyon uygulaması) santral vazopressin sekresyonunu azaltarak aköz diürece neden olduklarını ve bu etkinin böbrekleri olası bir iskemiye karşı da koruyabileceğini ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde, Frumento ve ark. (102) da daha öncesinde renal hastalığı bulunmayan torasik cerrahi uygulanmış olgularda idrar akımı yanı sıra glomerüler filtrasyon indekslerini kullanarak postoperatif renal fonksiyonları değerlendirdikleri çalışmalarında renal fonksiyonların preoperatif 24 saat boyunca uygulanan 0.4 µg/kg/sa dozundaki deksmedetomidin infüzyonu ile anlamlı olarak düzeldiğini göstermişlerdir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

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

3.1 Anestezi Uygulaması

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

3.2 Deney Grupları ve Protokol

Grup I (Sham, n=7): Laparotomi sonrası anestezinin 65. dakikasında sol renal pedikül diseke edilip başka bir girişim yapılmadan ratlar 285 dk. daha anestezi altında bekletildi. Böylelikle en uzun çalışma grubu süresi kadar (350 dk., Grup IV) anestezi süresi sağlandı.

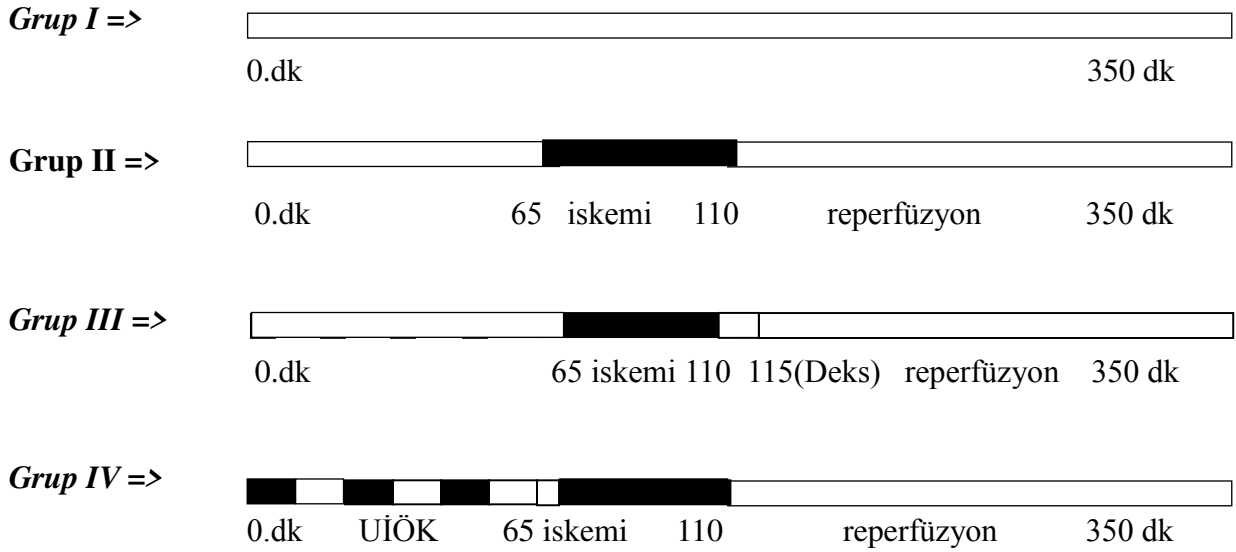
Grup II (İR, n=7): Laparotomi sonrasında anestezinin 65. dakikasında sol böbreğe 45 dk. total iskemi ve sonrasında 4 saat reperfüzyon uygulandı.

Grup III (İR+Deksmedetomidin, n=7): Laparotomi sonrasında anestezinin 65. dakikasında sol böbreğe İR (45 dk. iskemi + 4 saat reperfüzyon) uygulanan bu gruba reperfüzyonun 5. dakikasında 100 µg/kg (yaklaşık 0.5-0.6 ml) deksmedetomidin (Precedex 100 mcg/2 ml flk., Abbott Laboratory, Illinois, USA) i.p. verildi.

Grup IV (UIÖK+İR, n=7): Laparotomi sonrasında sol arka bacağa 10 dk. iskemi ve 10 dk. reperfüzyon üç döngü uygulanarak 5 dk. sonra (toplam 65 dk. sonra) Grup II'deki işlemler (45 dk. iskemi + 4 saat reperfüzyon) tekrarlandı.

Grup I'de renal pedikülün diseksiyonuna, Grup II ve Grup III'de iskemiye 65. dakikada başlamadaki amaç; Grup IV'deki ön koşullama süresine eşitlemek ve böylelikle

tüm gruplarda anestezi süresinin aynı olmasını sağlayarak (350 dk) işlemlerin başlangıcını standardize etmek olmuştur. Doku örnekleri reperfüzyon sonunda alınmıştır.



Şekil 8. Deney protokolünün şematik görünümü

UİÖK: Uzak İskemik Ön Koşullama

Deks :Deksmedetomidin

3.3 Deneysel Çalışma Modeli

Tüm ratlar anestezi uygulamasından sonra supin pozisyonda operasyon masasına sabitlenerek abdomen orta hat insizyonu ile açıldı, sol böbrek açığa çıkarıldı ve renal pedikül diseke edildi. Ratları hipotermiden korumak için çalışma süresince operasyon masası ısıtıcı bir lamba ile ısıtıldı ve rektal prob ile ölçülen vücut sıcaklığı 37-37,5 °C arasında tutuldu. Dehidratasyonu önlemek amacıyla subkutan serum fizyolojik solüsyonu saat başı 3 ml/kg dozda uygulandı. Bekleme süreleri boyunca batin ıslak steril tamponlar ve cerrahi pens ile kapatıldı.

Böbrek iskemi reperfüzyon modeli

Sol böbrek total iskemisi; atravmatik mikrovasküler klemp ile renal pedikül sıkıştırılarak oluşturuldu. Yeterli oklüzyon renal pedikülde pulsasyon olmaması ve böbrekte solukluk oluşması ile doğrulandı. (Resim 1) İskemi süresi tamamlandıktan sonra mikrovasküler klemp serbestleştirilip reperfüzyon sağlandı.



Resim 1. Ratın böbrek kan akımının kesilmesi

Uzak iskemik ön koşullama modeli

Uzak iskemik ön koşullama amacıyla turnike etkisi için; tez çalışmaları (101,114) ve yayınlarda kullanılıp etkinliği perfüzyon sintigrafisi ve lazer akım ölçerle gösterilmiş olan yöntem kullanıldı (29,32,55,56). Bu amaçla ratın sol arka bacağı kasık bölgesinden elastik bandaj (1 cm eninde ve 30 cm uzunluğunda) ile üç kez çepeçevre dolanarak sıkıldı. Üç döngü halinde 10 dk. iskemi oluşturulup takiben 10 dk. reperfüzyon sağlandı. Kan akımının kesilmesi lazer akımölçer (*Laser Flo BPM2, Vasamedic, USA*) ile doğrulandı(Resim 2,3).

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



Resim 2. Ratta bacak kan akımının lazer akımölçerle gösterilmesi.



Resim 3. Ratın bacak kan akımının kesildiğinin lazer akımölçerle gösterilmesi.

Deksmedetomidin ile farmakolojik ard koşullama yöntemi

Laparotomi sonrasında anestezinin 65. dakikasında sol böbreğe renal İR (45 dk. İskemi + 4 saat reperfüzyon) uygulanan bu gruba reperfüzyonun 5. dakikasında 100 µg/kg deksmedetomidin (Prec dex 100 mcg/2 ml flk., Abbott Laboratory, Illinois, USA) i.p. verilmiştir.

3.4 Histomorfolojik İncelemeler

Böbrek doku örnekleri DEÜTF Histoloji-Embriyoloji AD laboratuvarında incelendi.

Işık mikroskopik doku takip protokolü

Böbrek doku örnekleri %10' luk tamponlanmış nötral formalin solüsyonu içerisinde 3 gün süreyle tespit edilerek rutin doku takip işlemi başlatıldı. Tespit maddesinin uzaklaştırılması için 1 gece akar su altında yıkandıktan sonra, 60°C de etüvde 20' şer dakika sırasıyla %70, %80, %96 artan etil alkol serilerinden geçirildi. Daha sonra 60°C de etüvde 20' şer dakika dört değişim asetonda dehidrate edildi. Şeffaflandırma amacıyla 60°C de etüvde 30' ar dakika iki kez ksilolde bekletildi. 60°C' lik etüvde iki değişim halinde 1'er saat parafin ile immersiyonu sağlanarak parafin bloklar içerisine gömüldü (Tablo 1). Rotary mikrotom (*RM 2255, Leica, Köln, Germany*) aracılığı ile 4 µm'lik kesitler alındı.

Her deneğe ait kesitler dokunun genel histomorfolojik özelliklerini değerlendirmek için hematoksilen-eozin(H-E) ve bağ dokusunun değerlendirilmesi için Masson-Trikrom ile boyandı.

Hematoksilen-Eozin boyaması

Alınan kesitler deparafinizasyon işlemi için 2 saat 60°C'lik etüvde bırakıldı. Ardından ilki 20 dakika (etüvde) diğer ikisi 10'ar dakikalık üç farklı ksilene tabi tutuldu. Daha sonra rehidratasyon işlemi için 2 değişim absolü alkol ve %96'dan %70'e azalan alkol serilerinden geçirdi. Kesitler distle su ile çalkalandıktan sonra 10 dakika Hematoksilen (*01562E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire*) ile boyandı. Boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 10 dakika akarsuda yıkanan kesitler, 2 dakika Eozin (*01602E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire*) boyası ile boyandı. Boyamadan sonra sırasıyla %70, %80, %96 ve 2 seri absolü alkol serilerinden geçirilen kesitler şeffaflştırma amacıyla 20'şer dakika üç değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (*UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany*) ile kapatıldı.

Masson-Trikrom boyaması

Alınan parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 2 saat 60°C'lik etüvde bırakıldı. Ardından ilki 30 dakika (etüvde) diğer ikisi 20'şer dakikalık üç farklı ksilende tutuldu.

Daha sonra rehidratasyon işlemi için 2 değişim absolü alkol ve %96'dan %70'e azalan alkol serilerinden geçirildi. Akarsuda 5 dakika bekletildikten sonra Masson Trikrom boyama seti (*Biooptica 04-001702*) içerisinde dokular üzerine 8'er damla Heidenhain'in Azokarmini (A boyası) ile 30 dakika 56°C'de 10 dakika bekletildi. 5 dakika oda ısısında soğutulan kesitler distile suyla yıkandı. Kesitler sırasıyla 1 dakika Anilin-alkol solüsyonu (B boyası), daha sonra 1 dakika Asit-alkol solüsyonu (C boyası), 30 dakika Fosfowolframik asid (D boyası) ve 30 dakika Mallory'nin polikrom solüsyonunda (E boyası) bekletildi. %95'lik etil alkol ile çalkalandı ve artan alkol serilerinden geçirildi. Ksilen ile şeffaflaştırma yapıldıktan sonra entellan ile kapatıldı.

Böbrek dokusunun histomorfolojik değerlendirilmesi

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

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

3.5 Dışlama Kriterleri

Resüsitasyon gereksinimi olan ratların çalışma dışı bırakılması planlandı. Çalışma dışı kalan rat olmadı.

3.6 İstatistiksel Değerlendirme

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

4. BULGULAR

Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirilen çalışmaya toplam 28 rat dahil edildi ve tüm denekler çalışmayı tamamladı. Çalışma gruplarının histomorfolojik hasar skorları Tablo 1’de; skorların anlamlılıklarının karşılaştırılması (p değeri) Tablo 2’de sunuldu.

Tablo 1. Gruplara ait histomorfolojik hasar skorları

	PTYD	MNHE	EEKD	HHTS
Grup I (n=7) (Sham)	0,00±0,00	0,14±0,37	0,28±0,48	0,42±0,78
Grup II (n=7) (İR)	2,28±0,48	1,57±0,53	2,42±0,78	6,2±1,25
Grup III (n=7) (İR+Deks)	1,28±0,48	1,14±0,37	1,42±0,53	3,85±0,89
Grup IV (n=7) (UIÖK+ İR)	1,42±0,53	1,14±0,37	1,42±0,53	4,00±1,15
p ^a	<0.001*	0,001*	0,001*	<0.001*

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

PTYD: Proksimal Tübüluslarda Yapısal Değişiklikler

MNHE: Mononükleer Hücre Enfiltrasyonu

EEKD : Eritrosit Ekstravazasyonu ve Kapiller Dilatasyon

HHTS: Histomorfolojik Hasar Toplam Skoru

Tablo 2. Grupların histomorfolojik hasar skorlarının anlamlılıklarının (p^a değeri) karşılaştırılması

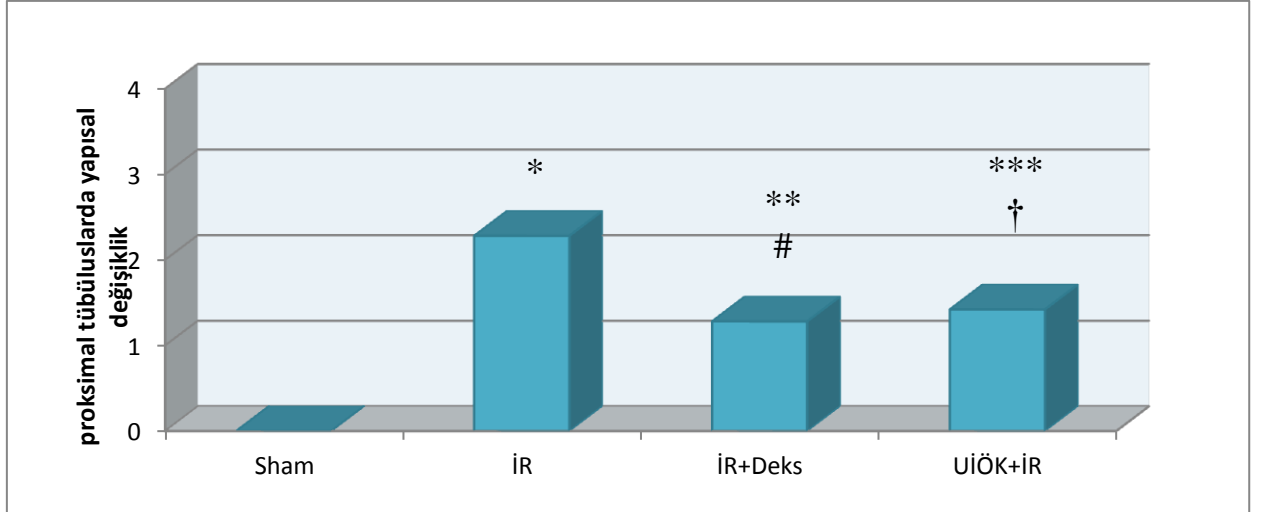
		İR	İR+Deks	UİÖK+İR
PTYD	<i>Sham</i>	0.001*	0,001*	0,001*
	İR		0,006*	0,015*
	İR+Deks			0,59
MNHE	<i>Sham</i>	0,002*	0,002*	0,002*
	İR		0,10	0,10
	İR+Deks			1,00
EEKD	<i>Sham</i>	0.002*	0,005*	0,005*
	İR		0,02*	0,02*
	İR+Deks			1,00
HHTS	<i>Sham</i>	0.001*	0.001*	0,001*
	İR		0,005*	0,009*
	İR+Deks			0,89

*p< 0,05: Gruplar arasında anlamlı fark; ^aMann Whitney U
 PTYD: Proksimal Tübüluslarda Yapısal Değişiklikler
 MNHE: Mono Nükleer Hücre Enfiltrasyonu
 EEKD : Eritrosit Ekstravazasyonu ve Kapiller Dilatasyon
 HHTS: Histomorfolojik Hasar Toplam Skoru

Böbrek Histomorfolojik Hasar Skoru

Proksimal tübüluslarda yapısal değişiklikler

Sham (0,00±0,00), İR (2,28±0,48), İR+Deks (1,28±0,48) ve UİÖK+İR (1,42±0,53) grupları incelendiğinde *Sham* grubu histomorfolojik hasar skorları İR, İR+Deks ve UİÖK+İR gruplarından anlamlı olarak düşük bulundu (p<0,01) (Tablo 1). İskemi Reperfüzyon, İR+Deks ve UİÖK+İR gruplarının hasar skorları karşılaştırıldığında anlamlı fark saptandı (p<0,05). İskemi Reperfüzyon grubu ile İR+Deks ve UİÖK+İR gruplarının skorları karşılaştırıldığında İR grubunda anlamlı yükseklik saptanırken (p<0,05), İR+Deks ve UİÖK+İR grupları arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,59) (Tablo 2) (Grafik 1).

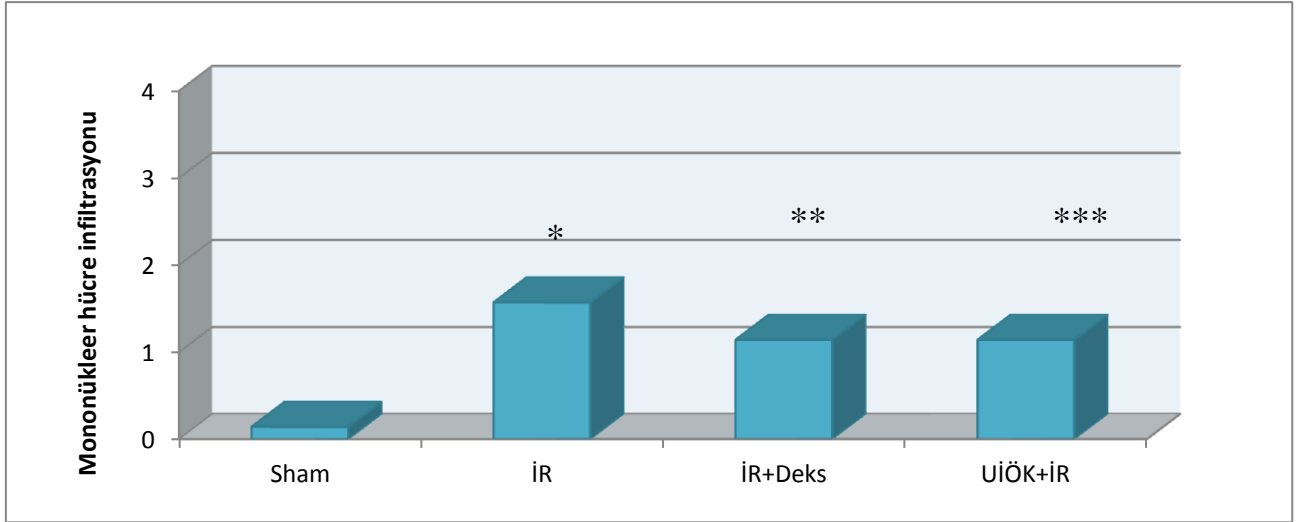


Grafik 1. Böbrek histomorfolojik incelemesinde proksimal tübüluslardaki hasar skorları

- * İR Grubu ile *Sham* Grubu karşılaştırıldığında ($p<0.01$)
- ** İR+Deks Grubu ile *Sham* Grubu karşılaştırıldığında ($p<0.01$)
- *** UIÖK+İR ile *Sham* Grubu karşılaştırıldığında ($p<0.01$)
- # İR+Deks Grubu ile İR Grubu karşılaştırıldığında ($p<0.05$)
- † UIÖK+İR ile İR Grubu karşılaştırıldığında ($p<0.05$)

Mononükleer hücre enfiltrasyonu

Sham ($0,14\pm0,37$), İR ($1,57\pm0,53$), İR+Deks ($1,14\pm0,37$) ve UIÖK+İR ($1,14\pm0,37$) grupları incelendiğinde *Sham* grubu histomorfolojik hasar skorları İR, İR+Deks ve UIÖK+İR gruplarından anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,01$) (Tablo 1) (Grafik 2). İskemi Reperfüzyon, İR+Deks ve UIÖK+İR gruplarının hasar skorları karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,1$).

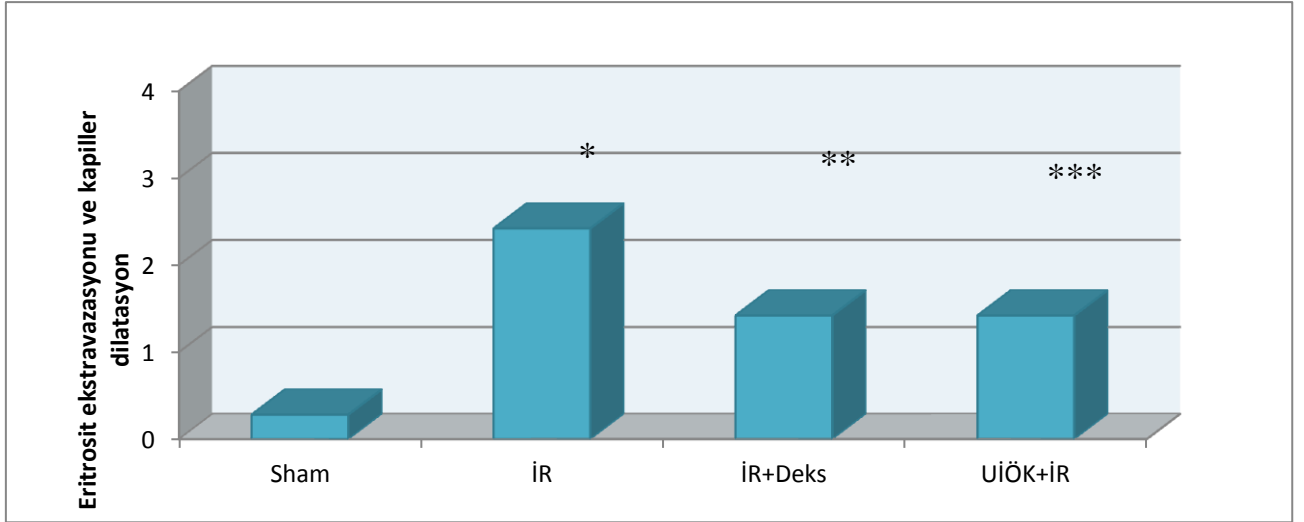


Grafik 2. Böbrek histomorfolojik incelemesinde mononükleer hücre enfltrasyonu skorları

- * İR Grubu ile *Sham* Grubu karşılaştırıldığında ($p<0.01$)
- ** İR+Deks Grubu ile *Sham* Grubu karşılaştırıldığında ($p<0.01$)
- *** UiÖK+İR ile *Sham* Grubu karşılaştırıldığında ($p<0.01$)

Eritrosit ekstravazasyonu ve kapiller dilatasyon

Sham ($0,28\pm0,48$), İR ($2,42\pm0,78$), İR+Deks ($1,42\pm0,53$) ve UiÖK+İR ($1,42\pm0,53$) grupları incelendiğinde *Sham* grubu histomorfolojik hasar skorları İR, İR+Deks ve UiÖK+İR gruplarından anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,01$) (Tablo 1). İskemi Reperfüzyon, İR+Deks ve UiÖK+İR gruplarının hasar skorları karşılaştırıldığında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$). İskemi Reperfüzyon grubu ile İR+Deks ve UiÖK+İR gruplarının skorları karşılaştırıldığında İR grubunda anlamlı yükseklik saptanırken ($p<0,05$), İR+Deks ve UiÖK+İR grupları arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=1$) (Tablo 2) (Grafik 3).

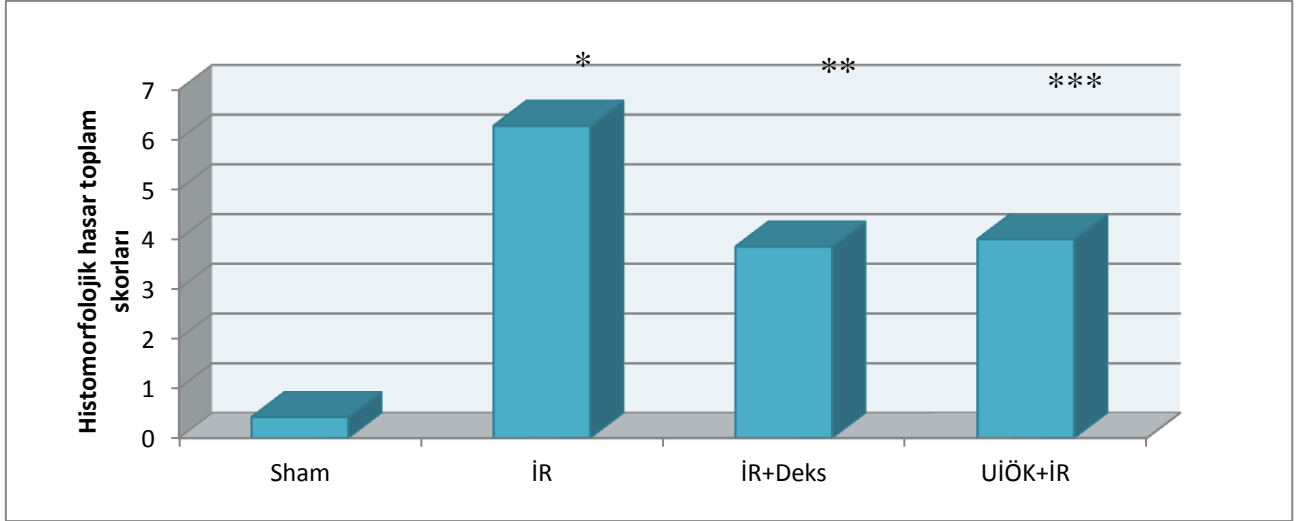


Grafik 3. Böbrek histomorfolojik incelemesinde eritrosit ekstravazasyonu ve kapiller dilatasyon skorları

- * İR Grubu ile *Sham* Grubu karşılaştırıldığında ($p<0.01$)
- ** İR+Deks Grubu ile *Sham* Grubu karşılaştırıldığında ($p<0.01$)
- *** UiÖK+İR ile *Sham* Grubu karşılaştırıldığında ($p<0.01$)

Histomorfolojik hasar toplam skoru

Sham ($0,42\pm0,78$), İR ($6,28\pm1,25$), İR+Deks ($3,85\pm0,89$) ve UiÖK+İR ($4,00\pm1,15$) grupları incelendiğinde *Sham* grubu histomorfolojik hasar skorları İR, İR+Deks ve UiÖK+İR gruplarından anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,01$) (Tablo 1). İskemi Reperfüzyon, İR+Deks ve UiÖK+İR gruplarının hasar skorları karşılaştırıldığında anlamlı fark saptandı ($p<0,01$). İskemi Reperfüzyon grubu ile İR+Deks ve UiÖK+İR gruplarının skorları karşılaştırıldığında İR grubunda anlamlı yükseklik saptanırken ($p<0,01$), İR+Deks ve UiÖK+İR grupları arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,89$) (Tablo 2) (Grafik 4).



Grafik 4. Böbrek histomorfolojik incelemesinde histomorfolojik hasar toplam skorları

- * İR Grubu ile *Sham* Grubu karşılaştırıldığında ($p<0.01$)
- ** İR+Deks Grubu ile *Sham* Grubu karşılaştırıldığında ($p<0.01$)
- *** UIÖK+İR ile *Sham* Grubu karşılaştırıldığında ($p<0.01$)

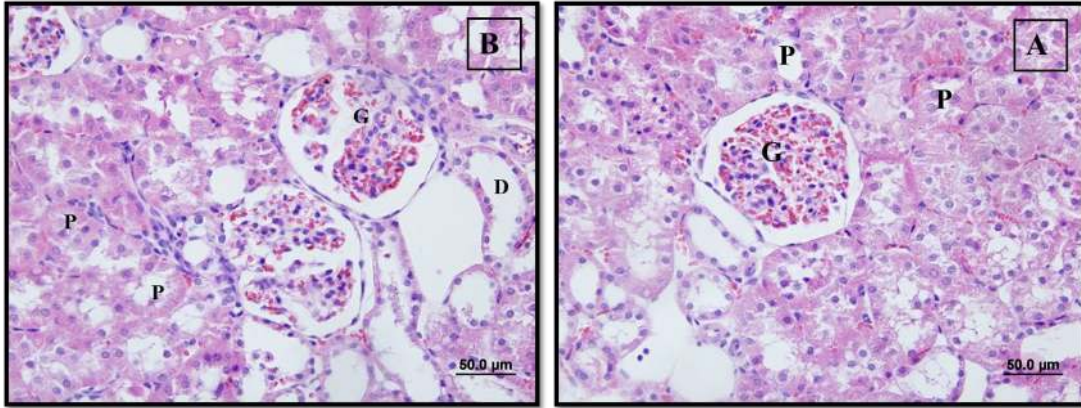
Sham grubuna ait böbrek kesitleri incelendiğinde, böbrek dokusuna ait korteks ve medulla ayrımının rahatlıkla yapılabildiği, korteksin dışında fibröz kapsülün sağlam olarak yer aldığı gözlemlendi. Kortekste renel korpüsküllerin normal yapıda olduğu, Bowman kapsülünün pariyetal ve visseral yaprağının normal histolojik yapıda olduğu belirlendi. Proksimal ve distal tübül ile Henle kulbu ve kollektör tübüllerde yapıların normal olduğu görüldü. Epitel hücrelerinin karakteristik yapı ve özelliklerini koruduğu belirlendi. *Sham* grubunda normal histomorfolojik özellikler görülürken ve bu gruba ait kesitlerde herhangi bir hücre enfiltrasyonu ve fırçamsı kenar kaybı görülmedi (Resim 4).

İskemi reperfüzyon grubunda proksimal tübül hücrelerinde fırçamsı kenar kaybı, tübüler atrofi, tübüler dilatasyon, peritübüler alanda MNH enfiltrasyonu ve vakuolizasyon görüldü. Bazı tübüllerde proteinöz madde birikimi ile birlikte kast formasyonu ve tübül lümeninde hücre debrisleri belirlendi. Kortekste bazı bölgelerde, damarlarda dilatasyon ve eritrosit ekstravazasyonu izlendi (Resim 5,6,7,8).

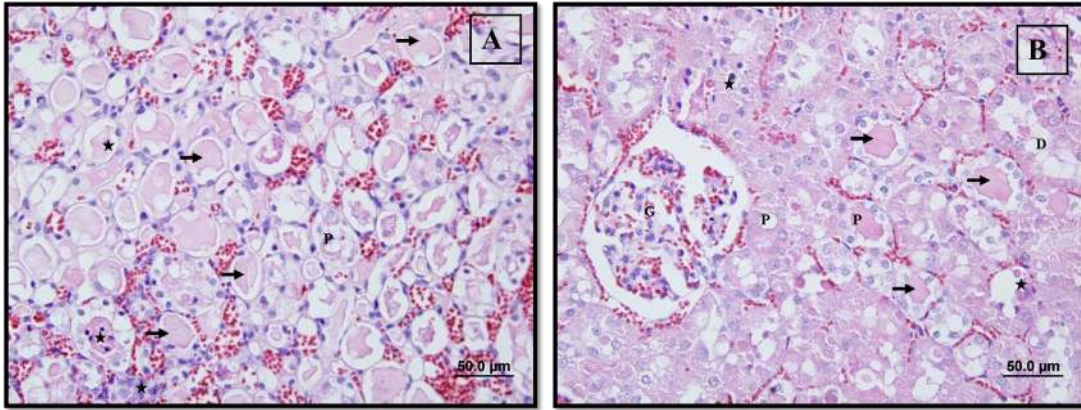
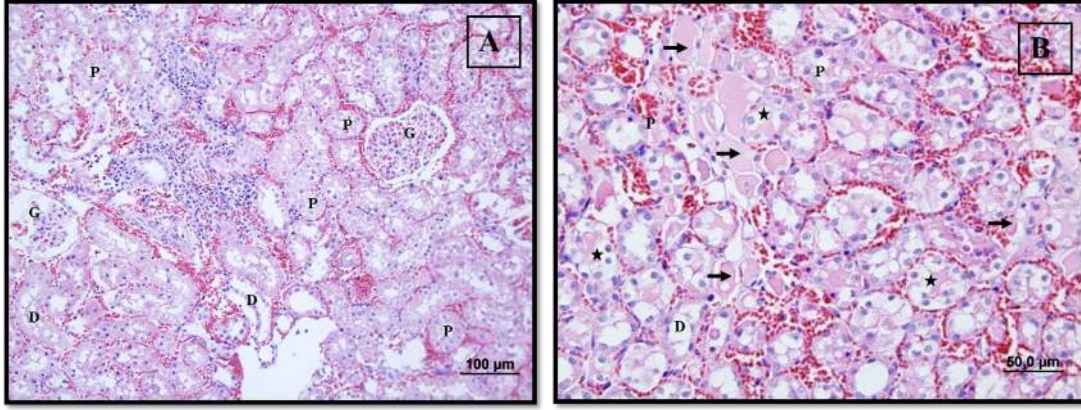
Deksmetomidin+İR grubunda; İR grubuna göre tübüler atrofi, tübüler dilatasyon ve vakuolizasyon ile tübüllerde proteinöz madde birikimi, tübül lümeninde hücre debrisleri ve fırçamsı kenar kaybı daha az oranda görüldü. İskemi Reperfüzyon grubuna göre peritübüler alanda MNH enfiltrasyonunda, eritrosit ekstravazasyonunda azalma izlendi. (Resim 9,10,13).

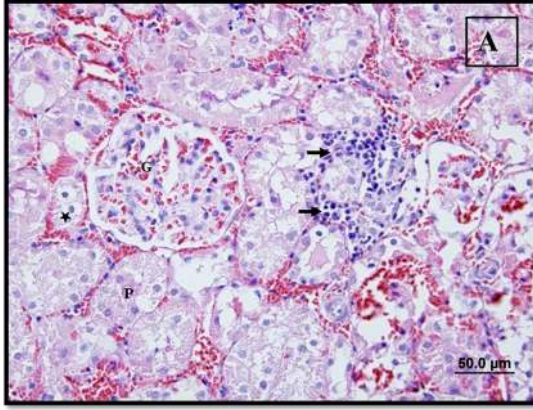
Uzak İÖK+İR grubunda; İR grubuna göre peritübüler alanda MNH enfiltrasyonunda, tübül hücrelerinde gözlenen dejenerasyonda ve kortekste eritrosit ekstravazasyonunda azalma görüldü. Mikroskopik alanlarda, tübüluslarda gözlenen fırçamsı kenar kaybı, tübüler atrofi, tübüler dilatasyon, vakuolizasyon ile tübüllerde proteinöz madde birikimi, tübül lümeninde hücre debrisleri İR grubuna göre daha az oranda izlendi (Resim 11,12,14).

Deksmedetomidin+İR grubu UIÖK+İR grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmamış olmasına rağmen histomorfolojik olarak Deksmetomidin+İR grubunda proksimal tübül hücrelerinde gözlenen fırçamsı kenar kaybı, tübüler atrofi, tübüler dilatasyon, vakuolizasyon, bazı tübüllerde proteinöz madde birikimi ile birlikte kast formasyonu ve tübül lümeninde hücre debrisleri UIÖK grubuna göre daha az oranda görüldü.

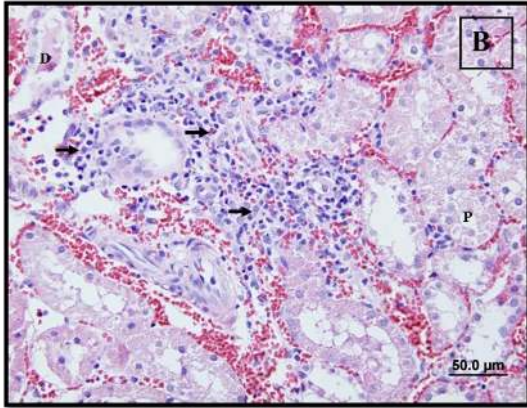


Resim 4 A,B : *Sham* grubuna ait Hematoksilen Eozin (H-E) ile boyanmış kesitler (X40) **G:**glomerül, **P:**proksimal tübül, **D:** distal tübül

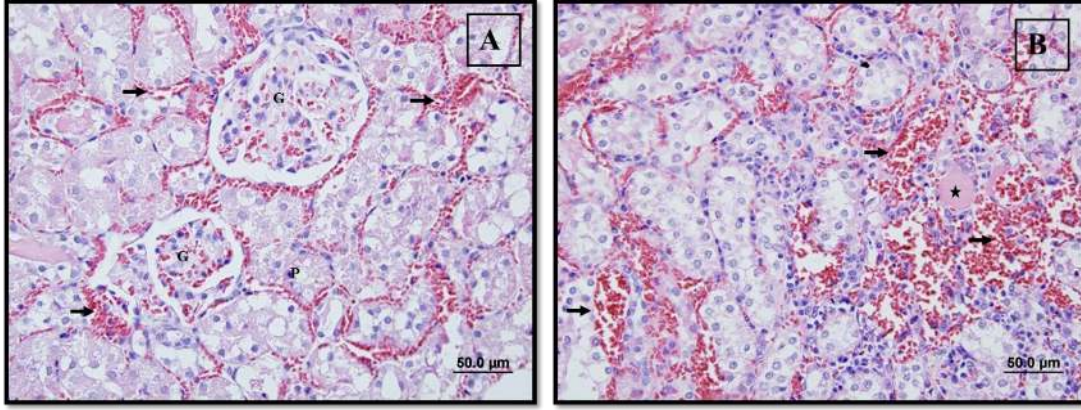




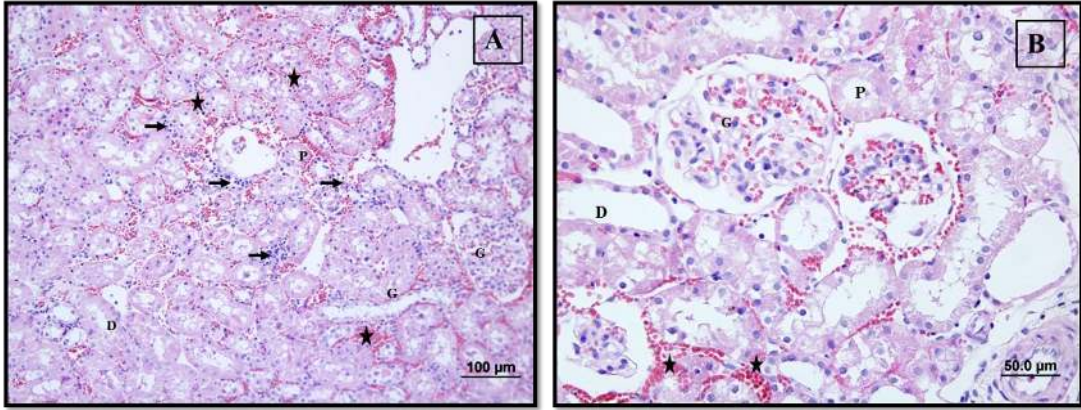
Resim 7: İR grubuna ait kesitler,(H-E)(X40). **G**:glomerül, **P**:proksimal tübul, **D**: distal tübul, (=>): mononükleer hücre enfiltrasyonu, (*) lümene dökülmüş proksimal tübul epitel hücreleri



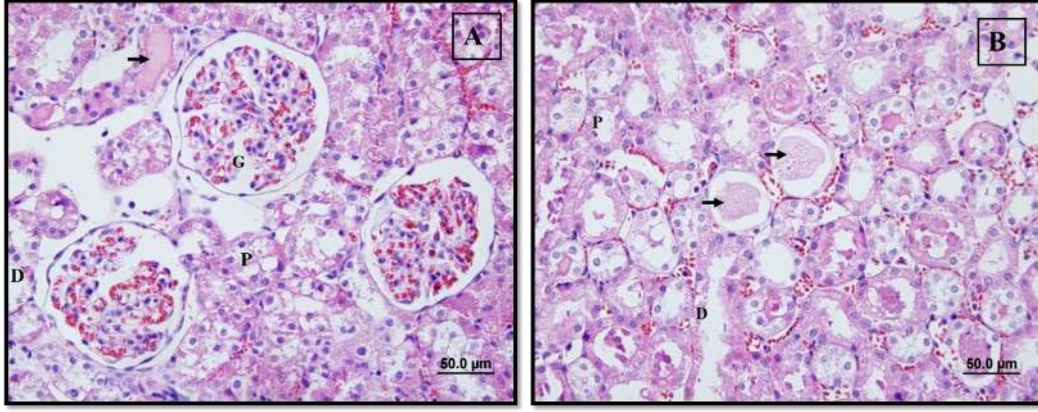
Resim 8: İR grubuna ait kesitler, (H-E)(X40). **G**:glomerül, **P**:proksimal tübul, **D**: distal tübul, (=>): mononükleer hücre enfiltrasyonu



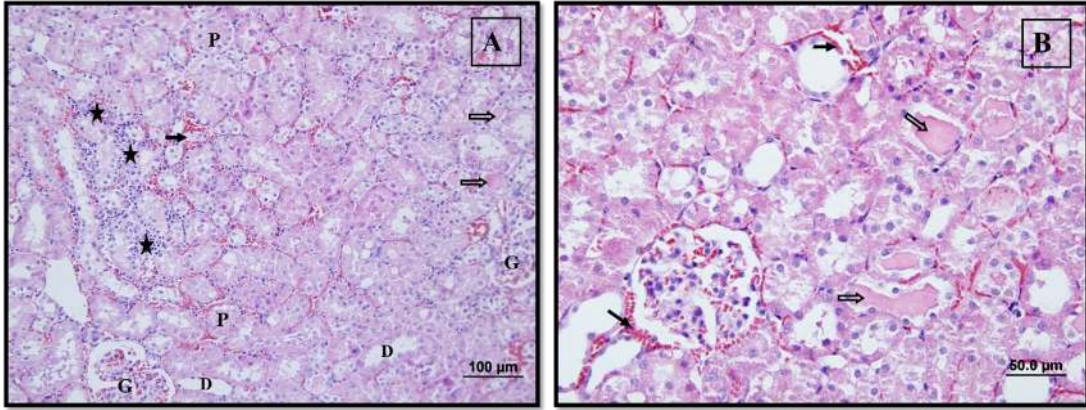
Resim 9 A,B : İR grubuna ait kesitler,(H-E)(X40) .**G:**glomerül, **P:**proksimal tübul, **D:** distal tübul, (=>): eritrosit ekstrasvazasyonu,(*) tübüllerde proteinöz madde birikimi



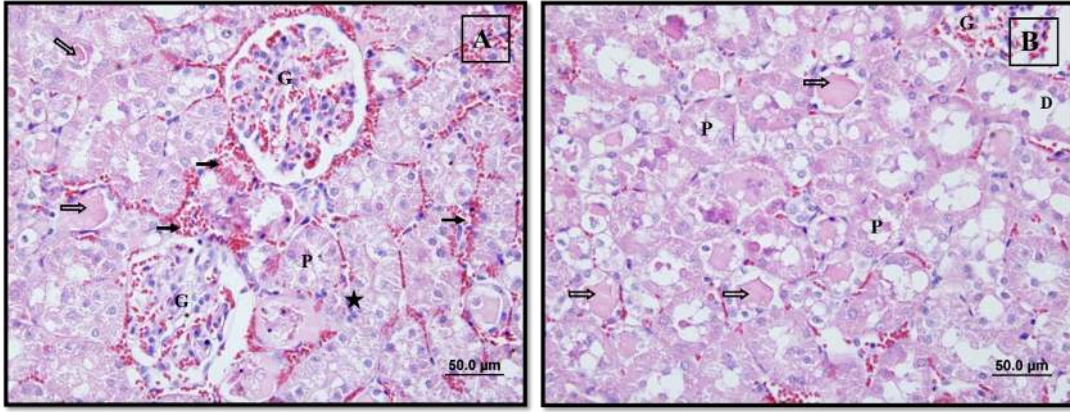
Resim 10 A,B : İR+Deks grubuna ait kesitler ,(H-E)(X20)(X40) **G:**glomerül, **P:**proksimal tübul, **D:** distal tübul, (=>) mononükleer hücre infiltrasyonu, (*): eritrosit ekstrasvazasyonu



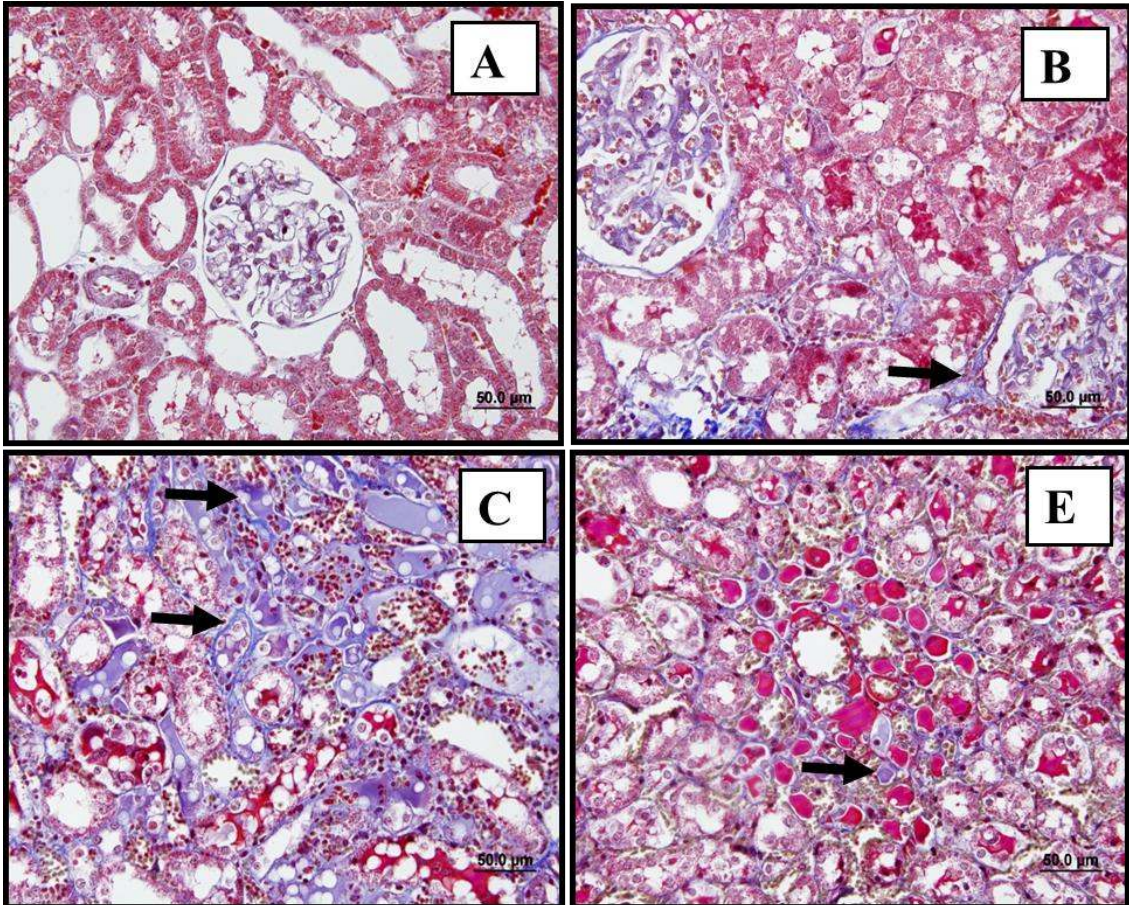
Resim 11 A,B : İR+Deks grubuna ait kesitler , (H-E)(X40) .**G:**glomerül, **P:**proksimal tübul, **D:** distal tübul, (=>) lümene dökülmüş proksimal tübul epitel hücreleri,proteinöz madde birikimi



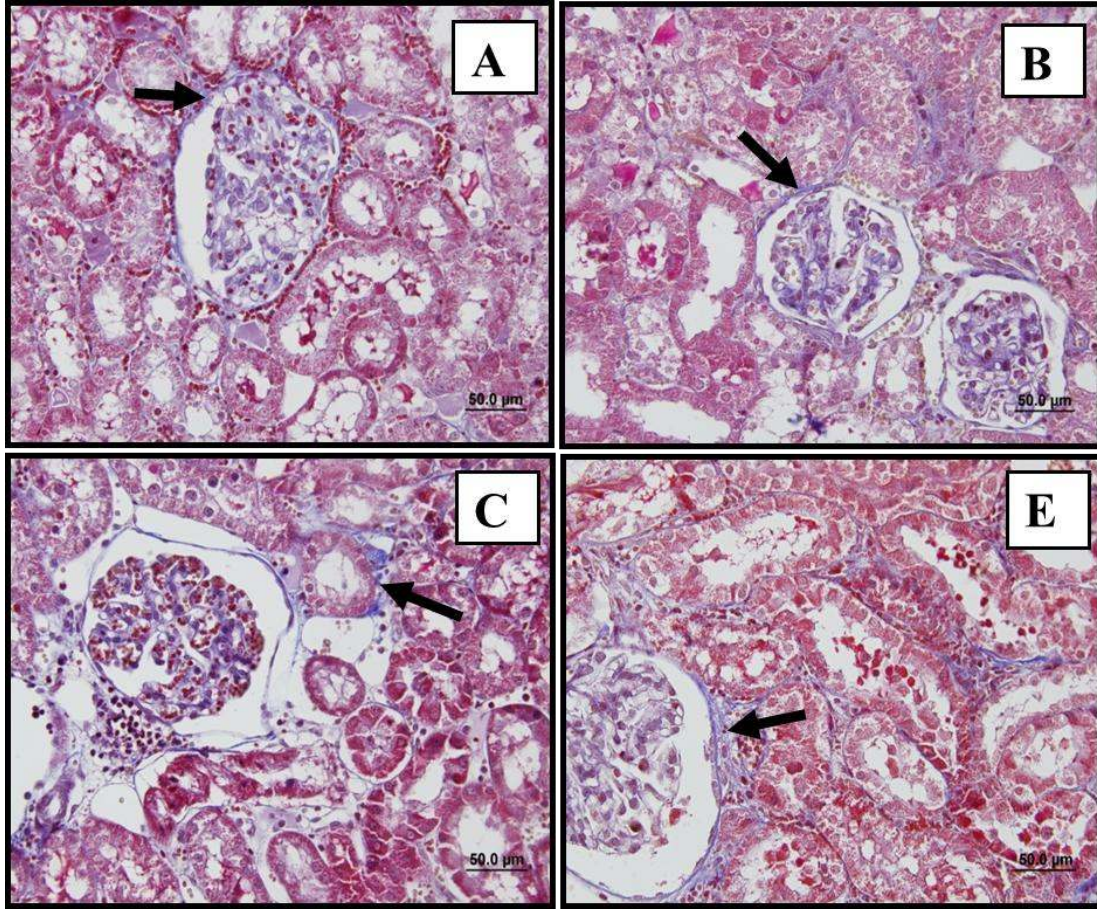
Resim 12 A,B: UİÖK+İR grubuna ait kesitler ,(H-E)(X20)(X40)**G:**glomerül, **P:**proksimal tübul, **D:** distal tübul,(=>): eritrosit ekstravazasyonu, (*) mononükleer hücre enfiltrasyonu ve (---->) tübüllerde proteinöz madde birikiminin diğer gruplara göre azalmış olduğu görünüm.



Resim 13 A,B: UİÖK+İR grubuna ait kesitler ,(H-E)(X40) .**G:**glomerül, **P:**proksimal tübul, **D:** distal tübul, (---->): eritrosit ekstravazasyonu, (*) mononükleer hücre infiltrasyonunun ve (=>) tübüllerde proteinöz madde birikiminin diğer gruplara göre azalmış olduğu görünüm.



Resim 14 A,B,C,E : A: *Sham* Grubuna ait kesit; B,C,E : İR Grubuna ait kesitler.(=>) mavi renkli kollajen doku artışına ait görünüm (*Masson-Trikrom* Boyama)(X40)



Resim 15 A,B,C,E : A,C : İR+Deks Grubuna ait ; B,E : UIÖK+İR Grubuna ait kesitler.(=>) mavi renkli kollajen doku artışına ait görünüm (*Masson-Trikrom Boyama*)(X40)

5. TARTIŞMA

Bu deneysel çalışmada rat renal İR modelinde UİÖK ve deksmetedomidinin etkileri karşılaştırılarak her iki yöntemin de renal İR hasarını histomorfolojik olarak anlamlı düzeyde azalttığı gösterildi. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, böbrek histomorfolojik hasar toplam skoru İR+Deksmetedomidin grubunda UİÖK+İR grubuna göre daha düşük bulundu.

İskemi reperfüzyon; vasküler ve transplantasyon cerrahisinde sık karşılaşılan bir durumdur. İskemik renal dokuda revaskülarizasyon, myonefropatik metabolik sendrom olarak adlandırılan metabolik asidoz, hiperkalemi, myoglobinemi, myoglobininüri ve renal yetersizlikle karakterize sistemik problemlerle sonuçlanır (30). Reperfüzyonla aktive olan birçok mekanizma ile ortaya çıkan toksik ürünler, adezyon molekülleri ve sitokinler *SIRS*'a neden olup başta akciğer olmak üzere kalp, beyin gibi uzak organlarda hasar oluşturup uzun süreli yoğun bakım izlemi gerektirebilecek *MOF*'a yol açabilmektedir (6,21,22,88). İskemi reperfüzyon hasarı sonucu böbreklerde histomorfolojik yönden mikrovasküler permeabilitede artış, interstisyel ödem, vazoregülasyonda bozulma, enflamatuvar hücre infiltrasyonu, parankimal hücre disfonksiyonu ve akut tubüler nekroz geliştiği gösterilmiştir (8).

Bu çalışmada daha önceki deneysel İR ile UİÖK modellerinde ve deksmedetomidin ile yapılmış araştırmalarda rat kullanılmış olması sebebiyle deney hayvanı olarak rat tercih edildi (19,70,98).

Deneysel rat renal İR hasar modellerinde farklı iskemi ve reperfüzyon süreleri kullanılmıştır.(19,98)Koçoğlu ve ark. (19) yaptıkları çalışmada renal İR modeli oluşururken, sağ nefrektomi uygulanmış ratlarda sol böbreğe 60 dk. iskemi ve sonrasında 45 dk. reperfüzyon uygulamışlardır. Williams ve ark. (98) ise bilateral renal arter ve veni klempleyerek 45 dk. iskemi uyguladıkları modelde reperfüzyondan sonraki 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 9, 24. saatlerde ve 1 hafta sonra kan ve doku örnekleri alarak renal hasarı araştırmışlardır. Çalışmalarında renal hasarın 45 dk.'lık iskemiye takiben en erken 4. saatte başlayıp 24. saatte pik yaptığını bildirmişlerdir. Curtis ve ark. (99),rat renal İR modelinde deksmedetomidin ve s- ketamin etkilerini kıyasladıkları çalışmalarında sol renal artere 45 dk. klempaj uygulayarak reperfüzyon sonrası 48. saatte kan ve doku örnekleri almışlardır. Cochran ve ark. (100) İÖK modellerini karşılaştırdıkları çalışmalarında uzun süreli iskemi

modeli oluşturmak için renal pedikülü 45 dk. klemplayerek reperfüzyonun 24. saatinde kan ve doku örneklerini almışlardır.

Bu çalışmadaki deneysel modelde Williams ve ark. (98) , Curtis ve ark.(99) ile Cochran ve ark. nın (100) kullandığı 45 dk. iskemi ve renal hasarın en erken gözlenebildiği 4 saatlik reperfüzyon süresi tercih edildi. Çalışmamızdaki model ile renal hasarın olduğu histomorfolojik olarak saptandı. İskemi Reperfüzyon grubu ile Sham grubu arasında histomorfolojik hasar skorları yönünden anlamlı fark bulunması İR modelinin doğru uygulandığını göstermektedir.

Bir organa uygulanan iskemi reperfüzyon epizodlarının başka bir organa iskemiye karşı dayanıklılık sağlaması esasına dayanan UİÖK yöntemi ilk olarak 1993' te Pryzlenk ve ark. (12) tarafından kalpte gösterilmiştir. Uzak İÖK' nin miyokard dışında akciğer (15), böbrek (83), iskelet kası (70) ve barsaklarda (61) da etkin olduğu bulunmuştur. Harkin ve ark. (82) domuzlarda bilateral alt ekstremitte iskemisi öncesinde gerçekleştirilen İÖK'nin İL-6 düzeyi, dolaşımdaki lökosit sayısı, pulmoner ödem ve solunum yetersizliği bulgularını azaltarak akciğer hasarını azalttığını saptamışlar ve yaşlı veya solunum yönünden yüksek risk altındaki hastaların planlı cerrahilerinde İÖK'nin faydalı olabileceğini savunmuşlardır.

Uzak İÖK' nin İR hasarını azaltmaktaki etkisini gösteren çalışmalar İR hasarından korunmada noninvaziv bir yöntem arayışını gündeme getirmiştir. Küntscher ve ark.(80) geçici iskemi oluştururken damar kan akımını direkt kesmek yerine noninvaziv turnike uygulamasının UİÖK' de alternatif yöntem olduğunu bildirmişlerdir. Saita ve ark. (70) ise iskelet kası İR hasarını engelleyen en etkili İÖK yönteminin üç kez 10 dk. iskemi ve 10 dk. reperfüzyon şeklinde olması gerektiğini göstermişlerdir.

Kanoria ve ark. (84) total karaciğer iskemi modelinde UİÖK'nin etkinliğini araştırmışlar ve arka bacağa üç döngü uygulanan UİÖK'nin serum transaminaz değerlerini düşürdüğünü, hepatik kan akımını arttırdığını ve periferik oksijen saturasyonunu yükselttiğini saptamışlardır. Olguner ve ark. (6) tek taraflı arka bacak İR'si öncesinde turnike yöntemiyle uygulanan UİÖK modelinin akciğer hasar skorunu ve lipid peroksidasyonunu azalttığını göstermişlerdir. Şahin ve ark. (22) arka bacağa turnike yöntemiyle uygulanan 10 dk.lık 3 döngü UİÖK'nin karaciğer İR hasarını direkt İÖK'ye göre daha belirgin azalttığını bulmuşlardır.Çalışmada, literatürde (22,70) ve kliniğimizde daha önce yapılan tez çalışmalarında (101,114) etkinliği gösterilmiş olan alt ekstremitteye üç döngü 10 dk. iskemi 10 dk. reperfüzyon şeklinde noninvaziv turnike uygulaması ile yapılan UİÖK yöntemi kullanıldı. Çalışmamızda İR grubu ile UİÖK grubunun

histomorfolojik toplam hasar skorları karşılaştırıldığında İR grubunda anlamlı yükseklik saptanmıştır. Bu sonuç, daha önce yapılan bir tez çalışmasının sonucuyla uyumlu olarak, UIÖK'nin renal İR hasarında da koruyucu etkinliği olduğunu düşündürmektedir (101). Ancak; Sham grubunda histomorfolojik toplam hasar skorunun UIÖK grubundan anlamlı düşük olması ise UIÖK'nin renal İR hasarını tümüyle engelleyemediğini ortaya çıkarmaktadır.

İskemiye bağlı akut böbrek yetersizliği; renal vazokonstriksiyon, tübüler hasar, glomerüler filtrasyon yetersizliği ve glomerüler hasardan oluşan kompleks bir sendromdur (116). İskemi reperfüzyon hasarını oluşturan mekanizmalar üzerinde etkili olabileceği düşünülen çeşitli ilaçlar profilakside (farmakolojik ön koşullama) ve tedavide (farmakolojik ard koşullama) kullanılmıştır (17,97,117). Fujii ve ark. (17) yaptıkları çalışmada; böbrek İR hasarı üzerine L-karnozinin etkilerini araştırmışlar ve L-karnozinle farmakolojik ön koşullama yapılan ratlarda hasarın belirgin olarak önlendiğini bildirmişlerdir. Çalışmacılar; İR hasarı ile artan renal sempatik aktivitenin ve noradrenalin düzeylerinin L-karnozin uygulamasıyla baskılandığını göstermişlerdir.

Farmakolojik ön/ard koşullamanın İR hasarından koruyucu rolünün araştırıldığı birçok deneysel çalışmada farmakolojik ajan olarak deksmedetomidin kullanılmıştır(19,102,103). Deksmetomidinin yakın zamanda ortaya çıkarılan bir diğer özelliği de İR hasarı üzerine koruyucu etkisidir. Deksmetomidinin tavşanlarda fokal iskemi, ratlarda kardiyak İR hasarı ve inkomplet ön beyin iskemisine karşı koruyucu etkinliği olduğu bildirilmiştir (97,104,105,106).

Deksmetomidinin klinik kullanımı dışında renal İR hasarını önleyici etkisi yeterince araştırılmamıştır. Deksmetomidinin renal İR hasarındaki koruyucu etkisinin mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte noradrenalin salınımını azaltarak renal kan akımı ve glomerüler filtrasyonu artırdığı kabul edilmektedir (118). Gu ve ark.(107) deksmedetomidinin renal hücre ölümünü azaltmak, HMGB-1 (High Mobility Group Protein B1) salınımını azaltmak ve TLR-4(Toll-Like Receptor 4) oluşumunu azaltarak enflamatuvar kaskadı baskılamak suretiyle renal İR hasarını azalttığını bildirmişlerdir. Bu ajanın renal İR üzerine histopatolojik etkileri ilk kez Koçoğlu ve ark. (19) tarafından araştırılmıştır. Çalışmacılar, reperfüzyon başında i.p. 100 µg/kg dozunda uyguladıkları deksmedetomidin ile İR'ye bağlı renal hasarın histomorfolojik olarak düzeldiğini göstermişlerdir. Anabilim dalımızda yapılan bir tez çalışmasında da;proflaktik (ön koşullama) veya terapötik (ard koşullama) olarak uygulanan i.p. 100 µg/kg dozunda

deksmedetomidinin renal İR hasarını önlemede histopatolojik olarak etkili olduğu gösterilmiştir (115). Bu çalışmalardan örnek alınarak, çalışmamızda deksmedetomidin reperfüzyonun 5. dakikasında i.p. 100 µg/kg dozunda terapötik olarak uygulandı. Çalışmamızda İR grubu ile Deksmetomidin grubunun histomorfolojik toplam hasar skorları karşılaştırıldığında İR grubunda anlamlı yükseklik saptanmıştır. Bu sonuç, daha önce yapılan çalışmaların sonucuyla uyumlu olarak, deksmedetomidinin renal İR hasarında koruyucu etkinliği olduğunu göstermektedir(19,107,115,118).

Bu çalışmada; İR+deksmedetomidin grubu UIÖK+İR grubu ile karşılaştırıldığında histomorfolojik toplam hasar skorları açısından anlamlı fark saptanmadı. Ancak; deksmedetomidin kullanılan grupta histomorfolojik hasar toplam skorunun kısmen daha düşük olması ve proksimal tübül hücrelerinde gözlenen fırçamsı kenar kaybı, tübüler atrofi, tübüler dilatasyon, vakuolizasyon, bazı tübüllerde proteinöz madde birikimi, kast formasyonu ve tübül lümeninde hücre debrislerinin UIÖK+İR grubuna göre daha az oranda görülmüş olması deksmedetomidinin İR hasarına karşı daha iyi korunduğunu ve renal hasarı iyileştirmede UIÖK'ye göre etkinliğinin kısmen daha fazla olduğunu düşündürmektedir.

Uzak İÖK böbrekte ek stres oluşturmada, operasyon sırasında cerrahi süre ve kan kaybını arttırmaksızın kolaylıkla uygulanabilen noninvaziv bir yöntem olabilir. Ulaşabildiğimiz kaynaklar ve literatür taramasında, böbrek İR modellerinde UIÖK ile deksmedetomidin kullanılan farmakolojik ard koşullamayı karşılaştıran bir çalışmaya rastlamadığından hangi yöntemin daha etkin olduğunu saptamak amacıyla bu deneysel çalışma planlandı.

Bu çalışmanın kısıtlılıkları; sadece histomorfolojik inceleme yapıp biyokimyasal değerlere ya da doku myeloperoksidazına bakılmamış olması, daha uzun reperfüzyon süreleriyle (24 saat gibi) çalışılmamış olmasıdır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak; bu deneysel çalışmada rat renal İR modelinde deksmedetomidin ile farmakolojik ard koşullamanın ve turnike ile uzak iskemik ön koşullamanın böbrek İR hasarını histomorfolojik olarak anlamlı düzeyde azalttığı saptandı. Her iki yöntem arasında anlamlı fark saptanmadı.

Major böbrek ve vasküler ameliyatlarda, cerrahi süreyi uzatmadan ve organa ek hasar oluşturmada İR hasarını önlemek için deksmedetomidinin ve UIÖK'nin uygulanabilir yöntemler olabileceği düşünülmektedir. Ancak her iki yöntemin de etki mekanizmaları ve etkinlikleri açısından farklarının ortaya konacağı, insandaki doz ve sürelerinin belirleneceği daha ayrıntılı ileri çalışmalara gereksinim vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and preventations of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133-38.
2. Laurent B, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol* 1986; 251:765-76.
3. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in rat. *J Clin Invest* 1984;74:1156-64.
4. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med* 2000; 109: 655-78.
5. Huang SS, Wei FC, Hung LM. Ischemic preconditioning attenuates postischemic leukocyte endothelial cell interactions role of nitric oxide and protein kinase C. *Circ J* 2006;70:1070-75.
6. Olguner C, Koca U, Kar A, Karci A ve ark. Ischemic preconditioning attenuates the lipid peroxidation and remote lung injury in the rat model of unilateral lower limb ischemia reperfusion. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006;50:150-5.
7. Gueler F, Park JK, Rong S. Statins attenuate ischemia-reperfusion injury by inducing heme oxygenase-1 in infiltrating macrophages. *J Pathol.* 2007;170:192-9.
8. Devarajan P. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1503–20.
9. Laurikka J, Zhong-Kai W, Lisalo P, Kaukinen L, ve ark. Regional Ischemic Preconditioning Enhances Myocardial Performance in Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting. *Chest* 2002;121:1183-89.
10. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-36.
11. Takaoka A, Nakae I, Mitsunami K. Renal ischemia/reperfusion remotely improves myocardial energy metabolism during myocardial ischemia via adenosine receptors in rabbits: effects of “remote preconditioning”. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 556-64.
12. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M. Regional ischemic preconditioning protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation* 1993; 87: 893-9.

13. Papanastasiou S, Estdale SE, Homer-Vanniasinkam S, Mathie RT. Protective effect of preconditioning and adenosine pretreatment in experimental skeletal muscle reperfusion injury. *Br J Surg* 1999;86:916-22.
14. Soncul H, Oz E, Kalaycioglu S. Role of ischemic preconditioning on ischemia reperfusion injury of the lung. *Chest* 1999;115:1672-77.
15. Peralta C, Prats N, Xaus C, Gelpi E ve ark. Protective effect of liver ischemic preconditioning on liver and lung injury induced by hepatic ischemia-reperfusion in the rat. *Hepatology* 1999;30:1481-89.
16. Gidday JM, Preconditioning: Translating the Promise. *Transl Stroke Res* 2010;1(1):19-30.
17. Fujii T, Takaoka M, Muraoka T. Preventive effect of L-carnosine on ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in rats. *Eur J Pharmacol* 2003;74: 261-7.
18. Gertler R, Brown HC, Mitchell DH, Silvius EN. Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *Proc BUMC (Bayl Univ Med Cent)* 2001;14:13-21.
19. Koçoğlu H, Öztürk H, Öztürk H, Yılmaz F ve ark. Effect of Deksmetomidine on ischemia-reperfusion injury in rat kidney a histopathologic study. *Ren Fail* 2009; 31: 70-74.
20. Kumbul K. Deneysel intestinal iskemi ve reperfüzyon modelinde caffeic acid phenethyl ester' in akciğer hasarını önlemedeki etkinliği. S.D.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D. Uzmanlık tezi 2007.
21. Carden D. L., Granger D. N. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J.Pathology* 2000;190:255-66.
22. Şahin E., Olguner Ç, Bodur H.A., Koca U. ve ark. Uzak ve Doğrudan İskemik Önkoşullamanın Karaciğerin Reperfüzyon Hasarı Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2009;29(2):381-7.
23. Atilla K., Çoker A., Sagol O, Çoker I. ve ark. Protective effects of carnitine in an experimental ischemia-reperfusion injury. *Clinical Nutrition* 2002;4:309-13.
24. Edelstein C.L, Ling H, Schrier RW. The nature of renal cell injury. *Kidney Int* 1997; 51: 1341– 51.
25. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA. Ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* 2002; 105: 248-58.
26. Best B. Ischemia and reperfusion injury in cryonics. www.benbest.com.

27. Kumar V, Cotran R, Robbins SL. Basic Pathology. 6th edition 2000: P:6-10,30-36.
28. Sakon M, Ariyoshi H, Umeshita K, Monden M. İschemia-reperfusion injury of the liver with special reference to calcium-depended mechanism. Surgery Today 2002; 32: 1-12.
29. McMichael M, Moore MRM. Ischemia–reperfusion injury pathophysiology, part I. J Vet Emerg Crit Care 2004; 14: 231-41.
30. Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. Br J Surg 1994; 81: 637-47.
31. Kılınç K. Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. Biyokimya Dergisi 1985; 2: 60-89.
32. Günel E, Çağlayan F, Çağlayan O, Dilsiz A ve ark. Treatment of intestinalreperfusion injury using antioxidative agents. J Pediatr Surg 1998; 33: 1536-39.
33. Oostenbrug GS, Mensink RP, Hardeman MR ve ark. Exercise performance, red blood cell deformability, and lipid peroxidation: effects of fish oil and vitamin E. J Appl Physiol 1997; 83: 746-52.
34. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. Crit Care Med 1993; 21: 1376-86.
35. Göksel Şener, Berrak Ç. Yeğen. İskemi Reperfüzyon Hasarı. Klinik Gelişim 5-13.
36. Howell JG, Zibari GB, Brown MF, Burney DL et al. Both ischemic and pharmacological preconditioning decrease hepatic leukocyte/endothelial cell interactions. Transplantation 2000;69:300–6.
37. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. Am J Physiol 1986;250: 749-53.
38. Udassin R, Vromen A, Haskell Y. The time sequence of injury and recovery following transient reversible intestinal ischemia. J Surg Res 1994; 56: 221-25.
39. Bonventre JV. Mechanisms of acute renal failure. Kidney Int. 1993;43:1160-70.
40. Aronson S, Blumenthal R. Perioperative renal dysfunction and cardiovascular anesthesia: concerns and controversies. J Cardiothorac Vasc Anesth 1998; 12: 567–86.
41. Huet F, Gouyou JB, Guignard JP. Prevention of hypoxemia-induced renal dysfunction by perindoprilat in the rabbit. Life Sci 1997; 61: 2157–65.
42. Dillon JJ, Grossman SH, Finn WF Effect of oxypurinol on renal reperfusion injury in the rat. Renal Failure 1993; 15: 37-45.

43. Sabbatini M, Sansone G, Uccello F, de Nicola L ve ark. Functional versus structural changes in the pathophysiology of acute ischemic renal failure in aging rats. *ZGdney Znt* 1994; 45: 1355-61.
44. Koç M, Arıkan H, Odabası Z, Akoglu E. İskemik ve toksik akut tübüler nekroz patofizyolojisi. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Association* 2006; 15: 13-24.
45. Noiri E, Gailit J, Sheth D. Cyclic RGD peptides ameliorate ischemic acute renal failure in rats. *Kidney Int* 1994; 46: 1050-58.
46. Chiao H, Kohda Y, McLeroy P, Craig L ve ark. Melanocyte-stimulating hormone protects against renal injury after ischemia in mice and rats. *J Clin Invest.* 1997;99:1165-70.
47. Losonczy G Jr. Early postischaemic renal fibrin deposition and reduction of glomerular filtration rate in the rat: effect of the defibrinating agent Arwin. *Acta Physiol Hung* 1985; 66:183-87.
48. Druid H, Enestroöm S, Rammer L. Effect of anticoagulation upon nephron obstruction in experimental acute ischaemic renal failure: a morphological study. *Int J Exp Pathol.* 1998;79:55-60.
49. Daemen MA, van de Ven MW, Heineman E, Buurman WA. Involvement of endogenous interleukin-10 and tumor necrosis factor-alpha in renal ischemia-reperfusion injury. *Transplantation.* 1999;27:792-99.
50. R.G.Woolfson, C.G.M. Millar, G H.Neild Ischaemia and reperfusion injury in the kidney: current status and future direction *Nephrol Dial Transplant* 1994: Editorial Comments.
51. Friedewald JJ, Rabb H: Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *T.Kidney Int* 2004; 66: 486-91.
52. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *J Biochem* 1984; 222 :1-10.
53. Chamoun F, Burne M, O' Donnel M, Rabb H. Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. *Front. Biosci* 2000; 5: 103-9.
54. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Hastalıkların patogenezi ve tedavisinde reaktif oksijen partikülleri ve antioksidanlar. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Association* 1997; 3-4: 96-101.

55. Bouchard JF, Lamontagne D. Mechanisms of protection afforded by preconditioning to endothelial function against ischemic injury. *Am J Physiol* 1996; 271: H1801–6.
56. Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med* 1996; 334: 1448-60.
57. Brezis M, Rosen S, Silva P, Epstein FH. Renal ischemia: A new perspective. *Kidney Int* 1984; 26: 375-58.
58. 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.
59. Dal Ponte C, Alchera E, Follenzi A ve ark. Pharmacological postconditioning protects against hepatic ischemia/reperfusion injury. *Epub* 2011 ; 32(10):1266-74.
60. Islam CF, Mathie RT, Dinneen MD, Kiely EA, ve ark. Ischaemia-reperfusion injury in the rat kidney: the effect of preconditioning. *Br J Urol* 1997;79:842-47.
61. Davis JM, Gute DC, Jones S, Krsmanovic A ve ark. Ischemic preconditioning prevents postischemic P-selectin expression in the rat small intestine. *Am J Physiol* 1999;277:2476-81.
62. Heurteaux C, Lauritzen I, Widmann C, Lazdunski M. Essential role of adenosine, adenosine A1 receptors, and ATP-sensitive K⁺ channels in cerebral ischemic preconditioning (forebrain ischemia/gene expression). *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:466-70.
63. Toosy N., McMorris E.L.J., Grace P.A., Mathie R.T. Ischaemic preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury. *BJU International* 1999 ;489-94.
64. Goto M, Liu Y, Yang X-M, Ardell JL, Cohen MV, Downey JM. Role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbit hearts. *Circ Res* 1995; 77: 611–21.
65. Gross GJ, Auchampach JA. Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Circ Res* 1992; 70: 223–33.
66. Neely CF, Keith IM. A1 adenosine receptor antagonists block ischemia-reperfusion injury of the lung. *Am J Physiol* 1995; 268: 1036–46.
67. Baxter GF, Gona FM, Yellon DM. Involvement of protein kinase C in the delayed cytoprotection following sublethal ischaemia in rabbit myocardium. *Br J Pharmacol* 1995;115: 222–4.

68. Marber MS, Latchman DS, Walker JM, Yellon DM. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation* 1993; 88: 1264–72.
69. Marber MS, Mestral R, Chi S-H, Sayen MR. Overexpression of the rat inducible 70-kD heat stress protein in a transgenic mouse increases the resistance of the heart to ischemic injury. *J Clin Invest* 1995; 95: 1446–56.
70. Saita Y, Yokoyama K, Nakamura K, Itoman M. effect of ischaemic preconditioning against ischaemia-induced reperfusion injury of skeletal muscle: how many preconditioning cycles are appropriate *J Plast Surg* 2002;55:-5.
71. Fan-zhu LI, Shoji Kimura, Akira Nishiyama. Ischemic preconditioning protects post-ischemic renal function in anesthetized dogs: role of adenosine and adenine nucleotides *Acta Pharmacologica Sinica* 2005 Jul; 26 (7): 851–9.
72. Lee HT, Emala CW. Protective effects of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment: role of A1 and A3 receptors. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 278: 380–7.
73. Turman MA, Bates CM. Susceptibility of human proximal tubular cells to hypoxia: effect of hypoxic preconditioning and comparison to glomerular cells. *Ren Fail* 1997; 19: 47–60.
74. Lochner A, Marais E, Genade S, Moolman JA. Nitric oxide: a trigger for classic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279: 252–65.
75. Peralta C, Closa D, Xaus C, Gelpí E ve ark. Hepatic preconditioning in rats is defined by a balance of adenosine and xanthine. *Hepatology* 1998;28:768–73.
76. Yoshizumi T, Yanaga K, Soejima Y, Maeda T ve ark. Amelioration of liver injury by ischaemic preconditioning. *Br J Surg* 1998; 85:1636–40.
77. Peralta C, Bartrons R, Serafin A, Blázquez C ve ark. Adenosine monophosphate–activated protein kinase mediates the protective effects of ischemic preconditioning on hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Hepatology* 2001;34:1164–73.
78. Riera M., Herrero I., Torras J., Cruzado J.M., Fatjo M. ve ark. Ischemic Preconditioning Improves Postischemic Acute Renal Failure *Transplantation Proceedings*, 1999;31:2346-47.
79. Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, Kristiansen SB ve ark. Limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. 2002;106:2881–3.

80. Küntscher MV, Kastell T, Sauerbier M, Nobiling R. ve ark. Acute remote ischemic preconditioning on a rat cremasteric muscle flap model. *Microsurgery* 2002;22:221–6.
81. Cheung MMH, Kharbanda RK, Konstantinov IE, Shimizu M ve ark. Randomized controlled trial of the effects of remote ischemic preconditioning on children undergoing cardiac surgery. First clinical application in humans. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:2277- 82.
82. Harkin DW, Barros D'Sa AAB, McCallion K, Hoper M ve ark. Ischemic preconditioning before lower limb ischemia-reperfusion protects against acute lung injury. *Vasc Surg* 2002;35:1264–73.
83. Ates E, Genc E, Erkasap N, Erkasap S ve ark. Renal protection by brief liver ischemia in rats. 2002;74:1247-51.
84. Kanoria S, Jalan R, Davies NA, Seifalian AM ve arkl. Remote ischaemic preconditioning of the hind limb reduces experimental liver warm ischaemia–reperfusion injury. *Br J Surg* 2006;93:762–8.
85. Addison PD, Neligan PC, Ashrafpour H, Khan A ve ark. Noninvasive remote ischemic preconditioning for global protection of skeletal muscle against infarction. *J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H1435–H43.
86. Kloner, R. A., Bolli, R., Marban, E. et al. Medical and cellular implications of stunning, hibernation, and preconditioning: an NHLBI workshop. 1998;97:1848-67.
87. Kloner, R. A. and Rezkalla, S. H. (2006). Preconditioning, postconditioning and their application to clinical cardiology. *Cardiovasc Res* : 297-307.
88. Yellon, D. M. and Downey, J. M. (2003). Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev* : 1113-51.
89. Legrand M, Mik EG, Johannes T, Payen D. ve ark. Renal Hypoxia and Dysoxia After Reperfusion of the Ischemic Kidney. *Mol Med* 2008 ;14(7-8) 502-16.
90. Pronobesh C., Dagagi A.V., Pallab C., Kumar W.A. Protective role of the calcium channel blocker amlodipine against mitochondrial injury in ischemia and reperfusion injury of rat liver. *Acta Pharm.* 2008; 58: 421–28
91. O. Erdoğan, S. Yıldız, A. Başaran, A. Demirbaş ve ark. Effect of intraportal verapamil infusion on hepatic ischemia-reperfusion injury. *Pol. J. Pharmacology* 2001; 53: 137–41

92. Meng Wang, Feng Shen, Le-Hua Shi, Tao Xi, ve ark. Protective effects of prednisolone on ischaemia - induced liver injury in rats. *World J Gastroenterol* 2008; 14(27): 4332-37.
93. Ping-Guo Liu, Song-Qing He, Yan-Hong Zhang, Jian Wu. Protective effects of apocynin and allopurinol on ischemia/reperfusion-induced liver injury in mice. *World J Gastroenterol* 2008 May 14; 14(18): 2832-37.
94. Yılmaz S, Ateş E, Tokyol Ç. The protective effect of erythropoietin on ischemia reperfusion injury liver. *HPB* 2004; 6(3): 169-73.
95. Holger K. Eltzschig, Charles D. Collard. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *British Medical B.* 2004; 70: 71-86.
96. Taniguchi T, Kidani Y, Kanakura H, Takemoto Y ve ark. Effects of dexmedetomidine on mortality rate and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats. *Crit Care Med* 2004; 32: 1322-6.
97. Hoffman WE, Kochs E, Werner C, Thomas C ve ark. Dexmedetomidine improves neurologic outcome from incomplete ischemia in the rat. Reversal by the alpha 2-adrenergic antagonist atipamezole. *Anesthesiology* 1991; 75: 328-32.
98. Williams P, Lopez H, Britt D, Chan C ve ark. Characterization of renal ischemia-reperfusion injury in rats. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1997; 37: 1-7.
99. Curtis FG, Vianna P T G, Viero RM. Dexmedetomidine and S(+)-ketamine in ischemia and reperfusion injury in the rat kidney. *Acta Cirurgica Brasileria* 2011 ; Vol 26(3) 202-6.
100. Cochran J, Williams B. T., Banerjee A. ve ark. Ischemic Preconditioning Attenuates Functional, Metabolic, and Morphologic Injury from Ischemic Acute Renal Failure in the Rat Renal Failure 1999, 21(2), 135-45.
101. Oral K. Ratlarda Renal İskemi Reperfüzyon Hasarına Uzak İskemik Önkoşullama ve Direkt İskemik Ön Koşullamanın Etkileri, Uzmanlık Tezi, DEÜTF Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD, İzmir 2010.
102. Frumento RJ, Logginidou HG, Wahlander S, Wagener G ve ark. Dexmedetomidine infusion is associated with enhanced renal function after thoracic surgery. *J Clin Anesth* 2006; 18: 422-26.
103. Villela N.R., Teixeira A. Dexmedetomidine on renal system and on vasopressin plasma levels. Experimental study in dogs. *Rev Bras Anesthesiol* 2005 ; 55: 429-40.

104. Maier CM, Sun GH, Kunis DM, Giffard RG ve ark. Neuroprotection by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist CGP 40116: In vivo and in vitro studies. *J Neurochem* 1995; 65: 652-59.
105. Koçoğlu H, Karaaslan K, Gonca E, Bozdoğan O ve ark. Preconditioning effects of dexmedetomidine on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. *Curr Ther Res Clin Exp* 2008; 69: 150–58.
106. Engelhard K, Werner C, Eberspächer E, Bachl M ve ark. The effect of the alpha 2-agonist deksmedetomidine and the N-methyl-D-aspartate antagonist S(+)-ketamine on the expression of apoptosis regulating proteins after incomplete cerebral ischemia and reperfusion in rats. *Anesth Analg* 2003; 96: 524–31.
107. Jianteng.Gu ,Pamela Sun,Hailin Zhao1,Helena R Watts ve ark.Dexmedetomidine provides renoprotection against ischemia-reperfusion injury in mice. *Critical Care* 2011 15:R153.
108. Wikberg JE, Uhlén S, Chhajlani V. Medetomidine stereoisomers delineate two closely related subtypes of diazoxan (imidazoline) I-receptors in the guinea pig. *Eur J Pharmacol* 1991; 193: 335-400.
109. Scheinin M, Kallio A, Koulu M. Sedative and cardiovascular effects of medetomidine, a novel selective alpha2-adrenoceptor agonist, in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 1987; 24: 443-51.
110. Kallio A, Scheinin M, Koulu M. Effects of deksmedetomidine, a selective alpha2-adrenoceptor agonist, on hemodynamic control mechanisms. *Clin Pharmacol Ther* 1989; 46: 33-42.
111. M, Scheinin M, Lehtinen AM. Intramuscularly administered deksmedetomidine attenuates hemodynamic and stress hormone responses to gynecologic laparoscopy. *Anesth Analg* 1992; 75: 932-39.
112. Talke P, Chen R, Thomas B. The hemodynamic and adrenergic effects of perioperative deksmedetomidine infusion after vascular surgery. *Anesth Analg* 2000; 90: 834-39.
113. Jalonen J, Hynynen M, Kuitunen A. Deksmedetomidine as an anesthetic adjunct in coronary artery bypass grafting. *Anesthesiology* 1997; 86: 331-45.

114. Uysal A.İ. Ratlarda Karaciğer İskemi Reperfüzyon Modelinde Uzak İskemik Ön Koşullama ve Uzak İskemik Ön Koşullamaya Eklenen N-asetil Sisteinin Etkilerinin Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, DEÜTF Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD, İzmir, 2011.
115. Gönüllü E. Renal İskemi Reperfüzyon Hasarına İki Farklı Zamanda Uygulanan Deksmetomidinin Etkilerinin Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi DEÜTF Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD, İzmir, 2011.
116. Weinberg JM. The cell biology of ischemic renal injury. *Kidney Int* 1991; 39: 476-500.
117. Smyrnoitis V, Arkadapoulos N, Kostopanagiotou G. Attenuation of ischemic injury by N- acetylcysteine preconditioning of the liver *J Surgery Res* 2005 Nov; 129 :31-7.
118. Taoda M, Adachi YU, Uchihashi Y, Watanabe K ve ark. Effect of dexmedetomidine on the release of [3H]-noradrenaline from rat kidney cortex slices: Characterization of alpha2-adrenoceptor. *Neurochem Int* 2001; 38: 317-22.

8. EKLER

ETİK KURUL ONAYI

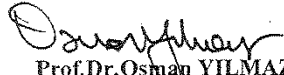


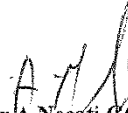
Toplantı No : 12/10/2011
Toplantı Tarihi : 29 Nisan 2011

Anesteziyoloji ve Reanimasyon Dalı Başkanlığı'na

26/2011 Protokol No'lu; Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Doktorlarından Dr.Cansu BALCI'nın yürüttüğü olduğu "Ratlarda renal iskemi reperfüzyon modelinde uzak iskemik ön koşullama ve deksmedetomidinin etkilerinin karşılaştırması" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.


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


Prof.Dr.A.Necati GÖKMEN
Başkan Yardımcısı

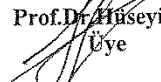

Prof.Dr.Alper SOYLU
Üye

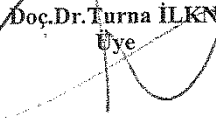
Prof.Dr.Ayşe GELAL
Üye (topl.katılamadı)


Prof.Dr.Selma SÖKMEN
Üye

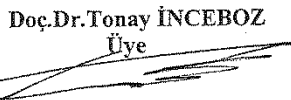
Prof.Dr.O.Nejat SARIOSMANOĞLU
Üye

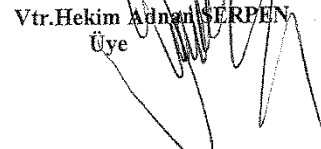
Prof.Dr.Abdullah KUMRAL
Üye (topl.katılamadı)


Prof.Dr.Hüseyin BASKIN
Üye


Doç.Dr.Turna İLKİNUR
Üye

Doç.Dr.H.Alper BAĞRIYANIK
Üye


Doç.Dr.Tonay İNCEBOZ
Üye


Vtr.Hekim Adnan SERPEN
Üye

Ayşe Nur BALIN
Üye (topl.katılamadı)

Doç.Dr.Şermin GENÇ
Üye (topl.katılamadı)

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin metin içinde **bold** karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.