



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



SUGAMMADEKSİN BÖBREK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE
ETKİSİ

Dr. Hasan KANAR

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ufuk KUYRUKLUYILDIZ

YARDIMCI TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Hakan Gökalp TAŞ

ERZİNCAN

2024

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

SUGAMMADEKSİN BÖBREK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE
ETKİSİ

Dr. Hasan KANAR

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ufuk KUYRUKLUYILDIZ

YARDIMCI TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Hakan Gökarp TAŞ

ERZİNCAN
2024

Etik Beyan

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi
Tıp Fakóltesi Dekanlığı'na,

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak hazırlayıp sunduğum ““Sugammadexin Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Etkisi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerkere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımca yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmasıyla ilgili tüm süreçler Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından, 31.08.2023 tarihinde, 2023/08 numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Hasan KANAR

Tarih:

İmza:

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgisini ve tecrübelerini bize aktaran, tıp etiğini görevimizin merkezine koymanın önemini söyleyen ve aynı zamanda tezimin her aşamasında yardımcı olan tez danışmanım hocam Sayın Prof. Dr. Ufuk KUYRUKLUYILDIZ'a;

Uzmanlık eğitimime bilgi ve tecrübeleri ile katkıda bulunan ve bana destek olan, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.B.D. Başkanı hocam Sayın Prof. Dr. Didem ONK'a;

Eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile bana destek olan hocalarım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Nurcan KUTLUER KARACA'ya ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Fethi AKYOL'a;

Asistanken, uzmanken ve hocayken beraber çalışma fırsatı bulduğum, asistanlık eğitimim boyunca her konuda abilik yapıp yol gösteren ve aynı zamanda yardımcı tez danışmanım olan saygıdeğer hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hakan Gökalp TAŞ'a;

Eğitimim süresince birlikte çalıştığım, her konuda desteklerini esirgemedi bana yardımcı olan tüm uzman doktorlarımıza;

Asistanlık sürecinin zorluklarını hep beraber üstlendiğimiz, omuz omuza birbirimize destek olduğumuz, geçen zamanı eğlenceli hale getiren her biri birbirinden kıymetli olan tüm asistan arkadaşlarıma;

Bugünlere gelmemin en büyük mimarları olan her zaman ve her koşulda beni destekleyen sevgili annem Raife KANAR'a ve babam Cuma KANAR'a;

Tüm bu zorlu süreçte her zaman yanımda olan, desteklerini esirgemeyen, bana ve çocuğuma her zaman sevgisiyle, duasıyla kol kanat geren sevgili eşim Hacer KANAR'a;

Bu zorlu süreçte evimizin neşesi, huzurumuzun kaynağı olan biricik oğlum Mert Efe KANAR'a;

Sevgi ve saygılarımla teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
ÖZET	1
ABSTRACT	3
1 GİRİŞ VE AMAÇ	5
2 GENEL BİLGİLER	7
2.1 Sinir Kas Kavşağı ve Nöromusküler İletim	7
2.1.1 Nondepolarizan Nöromusküler Blok	8
2.1.2 Nöromusküler Bloğun Sonlandırılması	9
2.2 Roküronyum Bromür	9
2.3 Sugammadeks	10
2.4 Böbrek	12
2.4.1 Anatomi	12
2.4.2 Böbrek Kan Akımı	13
2.4.3 Böbreğin Fizyolojisi	13
2.4.4 Böbreğin Histolojisi	14
2.4.5 Böbreğin Fonksiyonları	15
2.4.5.1 Glomerüler Filtrasyon	16
2.4.5.2 Su ve Elektrolit Dengesinin Ayarlanması	16
2.4.5.3 Arteriyel Kan Basıncının Ayarlanması	17
2.4.5.4 D Vitamini Sentezinin Düzenlenmesi	17
2.4.5.5 Eritrosit Yapımının Ayarlanması	17
2.4.5.6 Glukoneogenez	17
2.4.5.7 Metabolik Artıkların Atılımı	17
2.5 İskemi Reperfüzyon Hasarı	18
2.5.1 İskemik Hasar	18
2.5.2 Reperfüzyon Hasarı	19

2.5.3	İskemi Reperfüzyon Hasarında Serbest Radikaller	20
2.5.4	İskemi Reperfüzyon Hasarında İnflamatuvar Moleküller ve Endotel-Lökosit Etkileşimleri	22
2.6	Akut Böbrek Hasarı	24
2.6.1	İskemi Reperfüzyon Böbrek Hasarı	25
2.6.2	Akut Tübüler Nekroz (ATN).....	26
2.6.3	Akut Böbrek Hasarı Tanısında Kullanılan Yeni Belirteçler.....	27
2.6.3.1	Nötrofil Jelatinaz-İlişkili Lipokalin (NGAL).....	27
2.7	İskemi Reperfüzyon Hasarında Çalışılan Biyokimyasal Mediyatörler	28
2.7.1	Glutasyon (GSH)	28
2.7.2	Malondialdehid (MDA).....	29
2.7.3	IL-1 β	29
2.7.4	TNF- α	30
2.7.5	Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B).....	30
2.8	Çalışmada Kullanılan Diğer Etken Maddeler	31
2.8.1	Ksilazin.....	31
2.8.2	Ketamin	32
2.8.3	Ketamin ve ksilazin	33
3	GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1	Deney Hayvanlarının Seçimi	34
3.2	Anestezi Uygulaması	34
3.3	Deney Grupları	34
3.4	Deneyin Yapılışı ve Örneklerin Alınması.....	35
3.5	Histolojik Değerlendirme.....	36
3.6	Biyokimyasal Değerlendirme	37
3.6.1	Örnek Hazırlama.....	37
3.6.2	NF- κ B, IL-1 β , tGSH, TNF- α ve MDA Analiz	37
3.6.3	Üre ve Kreatinin Analizi.....	37
3.7	İstatistiksel Değerlendirme	38
4	BULGULAR	39
4.1	Biyokimyasal Bulgular	39
4.2	Histopatolojik Bulgular.....	43
5	TARTIŞMA	50
6	SONUÇ	56
7	KAYNAKLAR.....	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

HG:	Sağlıklı grup
RIR:	Böbrek iskemi reperfüzyon oluşturulan grup
SIR4:	4 mg/kg sugammadeks uygulanan böbrek iskemi reperfüzyon oluşturulan grup
SIR16:	16mg/kg sugammadeks uygulanan böbrek iskemi reperfüzyon oluşturulan grup
ROS:	Reaktif oksijen radikali
O ₂ -:	Süperoksit
H ₂ O ₂ :	Hidrojenperoksit
OH-:	Hidroksil radikali
MDA:	Malondialdehid
tGSH:	Total glutatyon
NF-κB:	Nükleer faktör-kappa beta
TNF-a ve b:	Tümör nekroz faktör alfa ve beta
İL-6:	İnterlökin-6
İR:	İskemi reperfüzyon
ABH:	Akut böbrek hasarı
ATP:	Adenozin trifosfat
Ach:	Asetilkolin
NMB:	Nöromusküler bloker
Na ⁺ :	Sodyum
K ⁺ :	Potasyum
Ca ⁺⁺ :	Kalsiyum
Cl ⁻ :	Klor
ADH:	Antidiüretik hormon
GFH:	Glomerüler filtrasyon hızı
HIF-1:	Hipoksi ile indüklenen faktör -1
VEGF:	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
COX-2:	Siklooksijenaz -2

cAMP:	Siklik adenoazinmonofosfat
DNA:	Deoksiribonükleik asit
ICAM-1:	İnterselüler adhezyon molekülü-1
ELAM-1:	Endotel-lökosit adhezyon molekülü-1
VCAM-1:	Vasküler hücre adhezyon molekülü-1
İL-8:	İnterlökkin-8
PAI-1:	Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
NO:	Nitrik oksit
NOS:	Nitrik oksit sentaz
nNOS:	Nöronal NOS
iNOS:	İndüklenebilir NOS
eNOS:	Endoteliyal NOS
NADPH:	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
L-selektin:	Lökosit yüzeyinden salınan adezyon molekülü
P-selektin:	Trombosit(platelet) yüzeyinde bulunan adezyon molekülü
CD11a:	Yüzey farklılaşma antijeni 11a
CD18:	Yüzey farklılaşma antijeni 18
RIFLE:	Risk Injury Failure Lost End Stage Kidney Disase
AKIN:	Acute Kidney Injury Network
KDIGO:	The Kidney Disease: Improving Global Outcomes
ATN:	Akut tübüler nekroz
NGAL:	Nötrofil jelatinaz- ilişkili lipokalin
GSH:	Glutasyon
GPx:	Glutasyon peroksidaz
GR-az:	Glutasyon redüktaz
GSH/GSSG:	İndirgenmiş glutasyon/yükseltgenmiş glutasyon oranı
PGE2:	Prostoglandin E
AIDS:	Kazanılmış Bağışıklık Yetersizliği Sendromu
NMDA:	N-metil-D-aspartat
ELISA:	Enzim bağlantılı immünosorbent

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Nöromusküler Ünite.....	8
Şekil 2.2. Sugammadeksin Kimyasal Yapısı.....	12
Şekil 2.3. İskemi Reperfüzyon Sırasında Serbest Radikallerin Üretilmesi.....	22
Şekil 4.1. HG, RIR, SIR4 ve SIR16 Gruplarında İL-1 β , NF-K β , GSH ve Üre düzeyleri.....	42
Şekil 4.2. HG, RIR, SIR4 ve SIR16 Gruplarında TNF-a ve MDA düzeyleri.....	42
Şekil 4.3. HG, RIR, SIR4 ve SIR16 Gruplarında Kreatinin düzeyleri.....	43
Şekil 4.4. HG, RIR, SIR4 ve SIR16 Gruplarının 100X Büyütmedeki Mikrograftları.....	44
Şekil 4.5. HG, RIR, SIR4 ve SIR16 Gruplarının 200X Büyütmedeki Mikrograftları.....	45
Şekil 4.6. HG, RIR, SIR4 ve SIR16 Gruplarının 400X Büyütmedeki Mikrograftları.....	46
Şekil 4.7. HG, RIR, SIR4 ve SIR16 Gruplarının Histopatolojik Skor Sonuçları.....	49

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo2.1 İskemi Reperfüzyon Hasarında Yer Alan Serbest Radikaller ve Kaynakları.....	21
Tablo 2.2. Akut Böbrek Hasarının Sınıflandırılması.....	25
Tablo 4.1. Gruplara Göre Biyokimyasal Bulgular.....	39
Tablo 4.2. tGSH, Üre ve Kreatinin Gruplar Arası Karşılaştırmaları.....	40
Tablo 4.3. Gruplara Göre Histopatolojik Bulgular.....	47
Tablo 4.4. Histopatolojik Bulguların Gruplar Arasındaki Karşılaştırmaları.....	48



ÖZET

Amaç: İskemi, dokuların kan akımının kesilmesiyle oluşan bir durumdur. Hem iskemi hem de iskemi sonrasındaki reperfüzyon vücutta hasara neden olabilir. İskemik dokuda çeşitli reaksiyonlara bağlı olarak serbest oksijen radikalleri meydana gelir. Reperfüzyonun sağlanmasıyla inflamatuvar moleküller ve endotel-lökosit etkileşimleri sonucunda oluşan mediatörler sistemik dolaşıma geçerek reperfüzyon hasarına neden olur. Sugammadeks, anestezi uygulamalarında yaygın olarak kullanılan modifiye bir γ -siklodekstrin molekülüdür. Siklodekstrinlerin nöroprotektif etkileri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Fakat renal iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkisi yeterince araştırılmamıştır. Bu çalışma ile sugammadeksin ratlarda renal iskemi reperfüzyon hasarının neden olduğu histopatolojik değişiklikler ve renal iskemi reperfüzyon hasarı patogenezinde rol oynayan oksidan ve proinflamatuvar sitokinler üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada 24 adet erişkin Wistar Albino tipi erkek rat kullanıldı. Deney hayvanları sağlıklı grup (HG), böbrek iskemi reperfüzyon oluşturulan grup (RIR), 4 mg/kg sugammadeks uygulanan böbrek iskemi reperfüzyon oluşturulan grup (SIR4) ve 16 mg/kg sugammadeks uygulanan böbrek iskemi reperfüzyon oluşturulan grup (SIR16) olarak 4 gruba ayrıldı. Uygun şartlarda beslenmeleri sağlanarak adaptasyonları sağlandı. Anestezi uygulandıktan sonra deney grupları oluşturuldu. Her grup için belirli cerrahi işlemler yapıldı ve sonrasında böbrek dokusu ve kan örnekleri alındı. Histopatolojik inceleme ve biyokimyasal analizler yapılarak veriler değerlendirildi. İstatistiksel yöntemlerle veriler analiz edildi ve $p<0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Çalışmada, gruplar arasındaki biyokimyasal ve histopatolojik bulgular incelenmiştir. Biyokimyasal analizlerde, HG grubu ile RIR, SIR4 ve SIR16 grupları arasında $\text{IL-1}\beta$, $\text{TNF-}\alpha$, $\text{NF-}\kappa\text{B}$ ve MDA değerleri açısından istatistiksel farklılık bulunmamıştır. Ancak tGSH değerleri RIR, SIR4 ve SIR16 gruplarında düşük, üre ve kreatinin değerleri ise yüksek bulunmuştur. RIR ve SIR4 grubundaki tGSH değerleri HG grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük, üre ve kreatinin değerleri ise daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). SIR4 ve SIR16 grubundaki üre ve kreatinin değerleri de RIR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Histopatolojik incelemelerde, RIR grubunda genellikle hemorajik alanlar ve nekroz görülürken, SIR4 ve SIR16 gruplarında daha normal bir görünüm

izlenmiştir. Gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel açıdan anlamlı farklar bulunmuş.

Sonuç: Bu çalışmada, sugammadexsin renal iskemi reperfüzyon hasarı üzerindeki etkisi incelenmiştir. Farklı dozlarda uygulanan sugammadexsin, biyokimyasal parametrelerde anlamlı fark yaratmasa da histopatolojik olarak hasarı azalttığı ve yüksek dozlarda uygulanan sugammadexsin hasarı daha çok önlediği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Rat, iskemi, iskemi reperfüzyon hasarı, böbrek, sugammadexs



ABSTRACT

Aim: Ischemia is defined as the loss of perfusion to the tissues. Both ischemia and reperfusion following ischemia can cause tissue damage. Free oxygen radicals are the end products of reactions occurring in the ischemic tissue. As reperfusion is achieved, inflammatory molecules and mediators formed as a result of endothelium-leukocyte interactions pass into the systemic circulation, causing reperfusion injury. Sugammadex is a modified γ -cyclodextrin molecule widely used in anesthesia applications. The neuroprotective effects of cyclodextrins have been demonstrated in various studies. However, its effect on renal ischemic reperfusion injury has not been thoroughly investigated. In this study, the effect of sugammadex on histopathological changes caused by renal ischemia reperfusion injury in rats and on oxidant and pro-inflammatory cytokines that play a role in the pathogenesis of renal ischemia reperfusion injury were evaluated.

Materials and methods: In our study, 24 adult male Wistar Albino rats were used. Experimental animals were divided into 4 groups: healthy group (HG), renal ischemia reperfusion group (RIR), 4 mg/kg sugammadex applied renal ischemia reperfusion group (SIR4), and 16 mg/kg sugammadex applied renal ischemia reperfusion group (SIR16). The adaptation of rats were ensured by providing with nutrition under suitable conditions. After anesthesia administration, experimental groups were created. Specific surgical procedures were performed for each group, followed by the renal tissue and blood sample collection. Data were evaluated via histopathological examination and biochemical analyses. Obtained data were analyzed using statistical methods and the results were considered statistically significant for $p < 0.05$.

Findings: In our study, the differences between biochemical and histopathological findings between the groups were examined. In the biochemical analyses, no statistical difference was found between the HG group and the RIR, SIR4 and SIR16 groups in terms of IL-1 β , TNF- α , NF-k β and MDA values. However, while tGSH values were low in the RIR, SIR4 and SIR16 groups, urea and creatinine values were found to be higher. Although tGSH values in the RIR and SIR4 groups were statistically lower than those in the HG group, urea and creatinine values were found to be higher ($P < 0.05$). Urea and creatinine values in the SIR4 and SIR16 groups were also found to be significantly lower than the RIR group ($P < 0.05$). In histopathological examinations, hemorrhagic areas and necrosis were generally observed in

the RIR group, while a more normal appearance was observed in the SIR4 and SIR16 groups. Comparisons between groups revealed statistically significant differences.

Results: In this study, the effect of sugammadex on renal ischemia reperfusion injury was examined. Although in varying doses sugammadex did not create a significant difference in biochemical parameters, we found that it reduced the histopathological damage and even prevented the damage in higher doses.

Keywords: Rat, ischemia, ischemia reperfusion damage, kidney, sugammadex



1 GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi, dokulara gelen kan akımının azalması veya tamamen kesilmesi sonucu dokuların oksijensiz kalması durumudur. İskemik dokuya ilk yapılacak müdahale, dokunun yeniden kanlanması (reperfüzyonunu) sağlamak olmalıdır. Ancak, reperfüzyonun sağlanması iskemik bölgede aşırı reaktif oksijen radikalinin (ROS) oluşmasına neden olur; reperfüzyon mediatörleri olarak bilinen bu ROS lar, hücre membran lipidlerini oksidasyona uğratarak, lipidlerden malondialdehid (MDA) gibi toksik ürünlerin meydana gelmesini sağlarlar [1]. Araştırmalar, ROS ve sitokinler gibi çeşitli inflamatuvar mediatörlerin reperfüzyon hasarında yer aldığını ve birbirleriyle etkileşime girdiğini ortaya koymuştur [2]. İskemi-reperfüzyon kaynaklı (IR) hasar, iskemi ile başlayan, daha sonra reperfüzyon sonucu oksidatif stres ve inflamasyon ile ilerleyen patojenik bir süreç olarak tanımlanmıştır [3]. Bu nedenle oksidatif stres, proinflamatuvar mediatörleri aktive ederek inflamatuvar hastalıkların gelişmesine yol açabilmektedir [4].

Kalp, beyin ve böbrekler gibi hayati organların iskemik yaralanmaları, morbidite ve mortalitenin artışına katkıda bulunabilir. Karotid endarterektomi, böbrek ve karaciğer transplantasyonu ameliyatları sık yapılan işlemlerdir ve dokularda iskemi dönemini takiben reperfüzyon gelişir [5]. Renal IR hasarı, böbrekte daha önce hasar görmüş dokunun yeniden kan akışına maruz kaldığında şiddetlendiği patofizyolojik bir süreçtir. Tübüler epitel hücrelerinin ölümü, sitokinlerin üretimini ve immün hücrelerin infiltrasyonunu içeren bir inflamatuvar yanıt ile karakterizedir [6]. Ürolojik cerrahide sıklıkla kullanılan parsiyel nefrektomi operasyonları, kontrollü IR uygulamalarına güzel bir örnektir. Bu tür ameliyatlarda uygulanan kontrollü iskemi sonucunda IR hasarı gelişirse, zaten ameliyat nedeniyle azalmış olan fonksiyonel böbrek birimlerini azaltacak ve hem hasta hem de klinisyen açısından istenmeyen bir durum ortaya çıkarabilecektir [5].

Şok, arteriyel oklüzyon ve organ transplantasyonu sırasında meydana gelen renal iskemi çoğunlukla hücre ölümü, böbrek hasarı, böbrek transplantasyonunda gecikmiş greft fonksiyonu ve greft reddi ile ilişkili bulunmuştur [7]. Akut renal iskemi atağı sonrasında erken reperfüzyonun sağlanması böbrek hasarını sınırlamak için ilk basamak strateji olsa da, reperfüzyonun sağlanması da hücre hasara neden olabileceğinden, reperfüzyon sırasında uygulanacak önleyici stratejilerin araştırılması bu tür lezyonların önlenmesi açısından önem arz etmektedir [8]. İR hasarını azaltmak amacıyla birçok ajan ve yöntem ile birçok çalışma yapılmıştır. Antioksidanlar, serbest radikal ve nötrofil inhibitörleri, iskemik önkoşullanma,

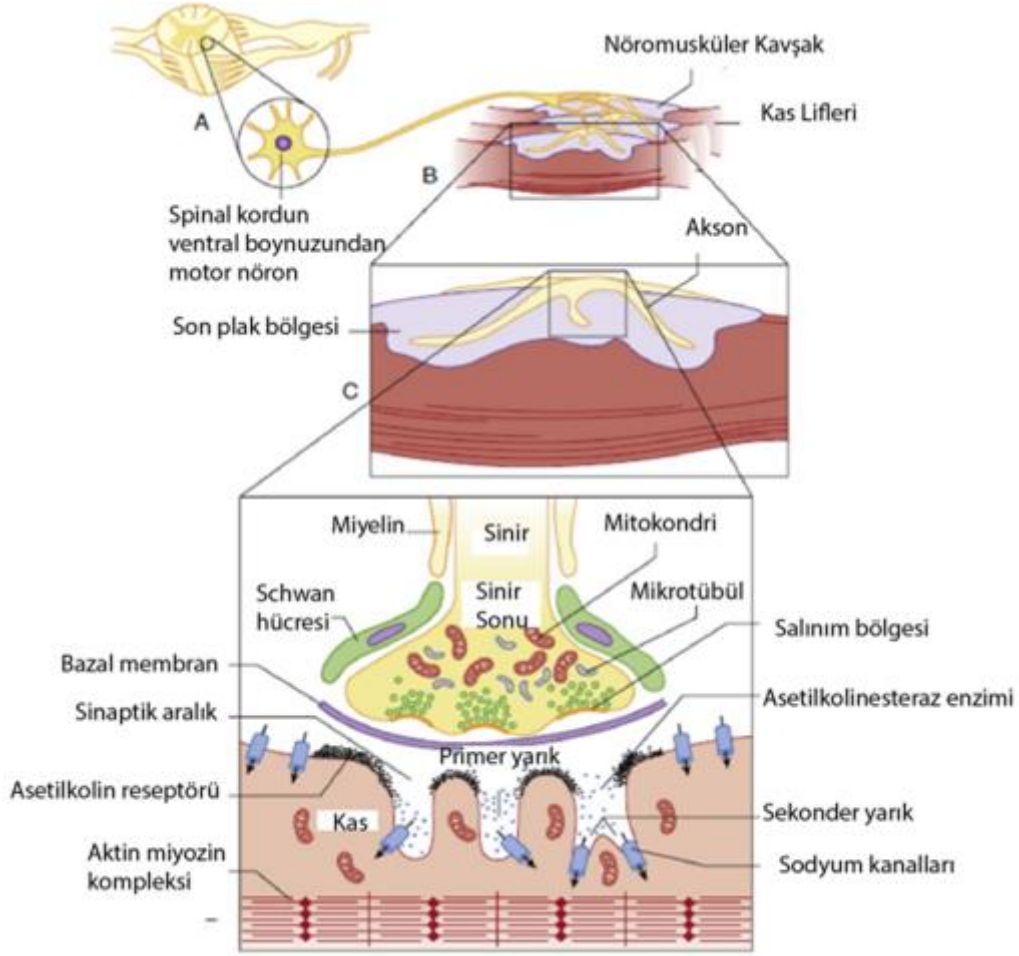
hipotermi gibi fizyolojik ve farmakolojik tedavi prensipleri böbrek hasarını azaltmak veya önlemek için denenmiştir. Örneğin böbrek karsinom cerrahisi için uygulanan parsiyel nefrektomide iskemik hasarın etkisini azaltmak amacıyla ürologlar; işlem sırasında böbrekte hipotermi yaratılması, klemp kullanılmadan parsiyel nefrektomi yapılması veya diseksiyonda lazer kullanılması gibi çeşitli cerrahi yöntemler üzerinde çalışmışlar [9]. Böylece geri dönüşümsüz iskemik hasarın, farmakolojik müdahale veya hipotermi ile birlikte uygulanan cerrahi yaklaşımlarla en aza indirilebileceği düşünülmüştür [10]. Böbrekteki I/R hasarının akut böbrek hasarının (ABH) en yaygın nedenlerinden biri olduğu bilinmektedir [11, 12]. Böbrek hasarının azaltılması, doku hasarına neden olan inflamatuvar ve vazoaaktif peptitlerin salınımını azaltarak nefroprotektif bir etkiye sahip olduğu kabul edilmektedir[9].

Siklodekstrinler, gıda ürünleri, kozmetik, tekstil ve çeşitli medikal ürünlerin bileşenleri olarak günlük hayatımızda önemli bir yere sahiptir. Tüm siklodekstrinlerin ortak özelliği suda çözünür olmalarıdır [13]. Sugammadex, son zamanlarda günlük anestezi uygulamalarında yaygın olarak kullanılan modifiye bir γ -siklodekstrin molekülüdür. Siklodekstrinlerin nöroprotektif etkileri, çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [14, 15]. Fakat sugammadexin renal I/R hasarı üzerine etkisinin incelendiği yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bundan dolayı bu deneysel çalışma ile sugammadexin; sıçanlarda renal IR hasarının neden olabileceği histopatolojik değişiklikler ve renal IR hasarı patogeneğinde rol oynayan oksidan ve proinflamatuvar sitokinler üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Sinir Kas Kavşağı ve Nöromusküler İletim

İskelet kas lifleri omuriliğin ön boynuzundaki büyük motor nöronlardan köken alan büyük miyelinli sinir lifleri tarafından uyarılırlar. Her sinir lifi kasın ortasına girdikten sonra dallanır ve üç ile birkaç yüz arasında değişen sayıda iskelet kası lifini uyarırlar [16]. Her sinir ucu, kas lifinin ortasına yakın bir yerde kas lifiyle bağlantı yapar. Sinir uyarısı ile kas lifinde başlatılan aksiyon potansiyeli, kas lifinin uçlarına doğru her iki yönde yayılır. Kas liflerinin yaklaşık yüzde doksan sekizinde, her kas lifinde bir kavşak vardır. Sinir lifi kas lifinin yüzeyine doğru ilerleyerek kas lifinin hücre zarının dışında uzanan bir dallanmış sinir uçları kompleksi oluşturur. Bu yapının tamamına motor son plak deniliyor. Motor son plak, kenidisini çevresindeki sıvılardan izole eden bir ya da daha çok Schwan hücresi ile kaplı bir şekilde bulunmaktadır. Akson sonunun karşısındaki kas liflerinde içeriye doğru girinti yapmış zara sinaptik oluk ya da sinaptik çukur; sinir ucuyla lif zarı arasındaki boşluğa sinaptik aralık ya da sinaptik yarık denir. Sinaptik aralık, 20-30 nm genişliğindedir. Sinaptik oluğun tabanında, sinaptik transmitterin etki edebileceği yüzeyi artıran, subnöral yarıklar denilen, kas lifi zarının yaptığı çok sayıda küçük kıvrımlar vardır. Akson ucunda, asetilkolinin sentezi için gerekli enerji kaynağı olan adenosin trifosfatı (ATP) sağlayan çok sayıda mitokondri bulunur. Asetilkolin (ACh) sinir ucunun sitoplazmasında sentezlenir, fakat hızlı bir şekilde birçok küçük sinaptik veziküle emilir; tek bir son plağın sinir uçlarında normalde yaklaşık 300.000 adet vezikülü vardır. Sinaptik aralıkta, asetilkolinesteraz enzimi bulunur, bu enzim sinaptik veziküllerden salıverilen asetilkolini parçalar [17].



Şekil 2.1.Nöromusküler Ünite

2.1.1 Nondepolarizan Nöromusküler Blok

Sinir hücresinde oluşan aksiyon potansiyeli asetilkolinin sekresyonuna neden olur. Salınan asetilkolin postsinaptik nikotinik asetilkolin reseptörlerine bağlanır. Pentamerik bir kompleks olan nikotinik asetilkolin reseptörü; 2 α , bir β , δ ve ϵ alt ünitelerden oluşur. Bu alt ünitelere asetilkolin veya diğer agonist-antagonist ilaçlar bağlanır. 2 asetilkolin molekülü α alt ünitelerine bağlanarak reseptörde konformasyonel değişikliğe neden olarak kanalı açar. Eğer bir nondepolarizan nöromusküler blokör (yarışmacı antagonist) asetilkolin reseptör alt ünitesine bağlanırsa 2 agonist aynı anda bağlanamadığından aksiyon potansiyeli oluşmaz, nöromusküler ileti inhibe olur [18, 19]. Nöromusküler blokajı, sinaptik aralıktaki ilaç konsantrasyonu ve postsinaptik reseptörlere karşı ilacın afinitesi belirler. Nöromusküler blokajın tersine döndürülmesinde temelde 3 mekanizma rol alır; 1- Presinaptik asetilkolinin salınımındaki artış, 2- asetilkolinesteraz enzim aktivitesindeki azalma, bu iki mekanizma ile

asetilkolin yıkımı azaldığından etki alanındaki asetilkolin miktarı artar ve yarışmacı inhibitörlere karşı asetilkolinin reseptöre bağlanma ihtimalinde artış meydana gelir. 3-Nöromusküler kavşakta nöromusküler blokör konsantrasyonundaki azalma. Agonist ve antagonistler arasındaki bu yarış, ilaçların göreceli yoğunlukları ve bağlanma karakterlerine göre değişmektedir [20].

2.1.2 Nöromusküler Bloğun Sonlandırılması

Nondepolarizan kas gevşeticilerin kademeli difüzyonu ile yeniden dağılımı ve metabolizması, vücuttan atılımı (kendiliğinden tersine dönüş) veya spesifik tersine dönüştürücü ajanın uygulanmasına (farmakolojik tersine dönüş) bağlı olarak nöromusküler blok tersine döner. Günümüzde nöromusküler bloğun geri döndürülmesi amacıyla kolinesteraz inhibitörleriyle birlikte selektif antagonist ajanlar da kullanılmaktadır.

2.2 Roküronyum Bromür

Roküronyum bromür, monokuaterner aminosteroid yapıda nondepolarizan kas gevşeticidir. 2-8 °C'de muhafaza edilecek olursa etkinliğini korur. ED95 dozu 0,3 mg/kg'dır. Otonomik gangliyon blokajı yapmayan, etki zamanı kısa, etki süresi orta düzeyde olan, uyanma ve eliminasyon süresi hızlı olan bir ajandır. Kompetitif antagonizma ile nikotinik kolinerjik reseptörlere bağlanarak etkinin oluşmasına neden olur. Sinir kas kavşağındaki hem pre, hem de post nikotinerjik reseptörleri etkiler, antikolinesteraz ilaçlarla tersine döndürülebilir [21].

Veküronyumun analogu olan roküronyum, 2 ve 16 pozisyonlarında piperidinin yerine diğer siklik yapılar geçtiğinden dolayı daha hızlı etki başlangıçlı bir bileşiğin oluşmasına neden olmuştur. Bir kas gevşeticinin ED50, ED90 ve ED95, nöromusküler blokörün, etki oluşturabilecek dozu ile twitch (seğirme) yüksekliğinde yaptığı %50, %90 ve %95 depresyonunu ifade eder. İlacın gücü, doz-yanıt arasındaki ilişkisi ile gösterilir [22].

Roküronyumun, diğer steroid yapıli nöromusküler blokerlerle (NMB) karşılaştırıldığında potensi daha azdır. Roküronyum brömür, %30 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Yarılanma ömrü 97 (±49) dakikadır. Erişkinlerde intravenöz 0,6-1 mg/kg'dan, çocuklarda 0,6 mg/kg'dan uygulandıktan 60-90 sn sonra entübasyon için uygun koşulları oluşturur.

Roküronyum 1,2 mg/kg iv uygulandıktan sonra 45 saniye içinde tam paralizi sağladığından dolayı hızlı entübasyon için kullanılabilir [23]. Roküronyumun 0.6 mg/kg

dozuyla (2XED95), 1.5 -2 dakikada maksimum blok meydana gelir ve 30- 40 dakika etki süresi oluştururken, 1 mg/kg dozda ise etki süresi yaklaşık olarak 60 dakikadır.

Roküronyumun hem etki başlama süresi hem de derlenme süresi başparmaktaki adduktor pollicis kasına göre diyafragma ve adduktor larengeal kaslarında daha hızlıdır [24].

Roküronyumun yenidoğanlarda 0.45mg/kg'dan uygulanması önerilir. 2 -12 yaş grubundaki çocuklarda yetişkinlere göre etki süresi daha kısa olduğundan dolayı bu yaş grubunda 0.9 mg/kg ile 1.2 mg/kg dozdan uygulanması önerilmektedir [25].

Kas gevşemesi öncelikle perfüzyonu daha iyi olan kaslarda meydana gelir, diyafram gevşemesi daha sonra oluşur. Sinir- kas kavşağında agonist/antagonist dengesinin achi lehine dönmesi ile roküronyumun aktivitesi sonlanabilir. Bu etki kolinesteraz inhibitörleri ile ortadan kaldırılabilir [18]. Roküronyum metabolize olmamakla birlikte eliminasyonu daha çok karaciğerden ve daha az oranda da böbrek yoluyla olur. Bundan dolayı böbrek hastalıklarında roküronyumun etki süresi çok da etkilenmemektedir. Anestezik teknik roküronyumun farmakokinetiğini etkilemezken yaş roküronyumun farmakokinetiğini etkiler. Roküronyumun eliminasyonu karaciğer yetmezliğinde uzamaktadır.

Roküronyumun belirgin otonomik ve kardiyovasküler yan etkileri bulunmamaktadır. 0,6-1,0 mg/kg dozda hafif vagolitik etki oluşturarak, taşikardiye neden olabilir. Roküronyum gangliyon blokajı ve histamin sekresyonuna neden olmadığından hipotansiyona neden olmaz. Enfluran ve izofluran gibi inhalasyon anestezikleri, roküronyumun etkisini güçlendirebilirler [18]. Hipotermi, roküronyumun plazma klirensi azaltarak etki süresinde uzamaya neden olmaktadır [26].

2.3 Sugammadeks

Sugammadeks, 'sugar' ile 'gamma-klordekstrin' kelimelerinden türetilerek isimlendirilmiştir. Siklodekstrinler yapılarında 6, 7 ve 8 siklik oligosakkarit bileşikleri bulundurulur ve sırayla alfa, beta ve gamma siklodekstrinler olarak isimlendirilirler. Yapı olarak boş huniye benzer. Gamma siklodekstrin grubundan olan Sugammadeks (ilk ismi organon 25969), 1981 yılında bulunan yeni nesil nöromusküler bloker antagonistidir [27, 28]. 2178 g mol⁻¹ molekül ağırlığında ve C₇₂H₁₀₄Na₈O₄₈S₈ ile kimyasal formüle edilmiş bileşiktir [29]. Gammasiklodekstrin yapıların iç yüzü lipofilik, dış yüzü hidrofiliktir ve suda çözünebilirler [28, 30].

Sugammadeks, nöromüsküler blokajı tersine döndüren ilk selektif ajandır. Sugammadeks steroid yapılı kas gevşeticileri 1:1 oranında bağlar, afinitesi açandan ajana değişmekle birlikte rokuronyum>veküronyum>panküronyum şeklindedir [27]. Sugammadeks diğer ajanların bağlanabileceği bir reseptör gibi davranarak aminosteroid yapılı kas gevşeticileri bağlar. Roküronyum veya veküronyum saracak biçimde bir yapıya sahiptir. Sugammadeksin mevcut olan yan zinciri roküronyum santral kaviteye alarak hapseder, bu duruma enkapsülasyon denir.

Sugammadeksin bağladığı NMB'lerin suda çözünürlüğü artar asetilkolin reseptörüne bağlanması zorlaşır, kas gevşetici ajanın suda çözünürlüğü arttığından plazma konsantrasyonu azalır [27, 28, 31].

Roküronyum konsantrasyonun plazmada azalması nöromüsküler kavşak ile plazma arasında roküronyum gradient farkı meydana getirir. Roküronyumların nöromüsküler kavşaktan plazmaya geçmesine neden olur, plazmada rokuronyum ve sugammadeksin bağlanması ile nöromüsküler blokajın ortadan kalkması sağlanmış olur [32, 33]. Sugammadeks, steroid yapılı olmayan diğer nondepolarizan kas gevşeticiler veya depolarizan kas gevşeticiler ile kompleks oluşturmadığından bu gruptaki kas gevşeticiler ile oluşturulan blokajın tersine döndürülmesine etkisi yoktur [34, 35].

Nöromüsküler blokajın geri döndürülmesi amacıyla sugammadeks kullanıldığında, tekrardan nöromüsküler blokaj oluşturmak için benzilizokinolon grubu bir nöromüsküler bloker kullanılması gerekmektedir [36]. Çünkü sugammadeksin steroid yapılı nöromüsküler bloke edici ajanlar üzerine etkisi 24 saate kadar uzayabilmektedir.

Sugammadeks, blok derecesine bağlı olarak 2-16 mg/kg dozdan uygulanabilir. Yüzeysel blokta 2mg/kg, derin blokta ise 4 mg/kg'dan uygulanmaktadır. Hızlı seri entübasyon için, 1-1,2 mg/kg'dan uygulanan rokuronyumun etkisini, 16 mg/kg'dan sugammadeks ile 3 dk içinde nöromüsküler blok tersine döndürülebilir [37].

Sugammadeksin uygulanan iv dozu arttıkça etkinliği de artar. Sugammadeksin yarı ömrü yaklaşık olarak 100 dakikadır ve 24 saatte sugammadeksin % 90'ı vücuttan atılır. %96'sı metabolize olmadan böbrekten atılır [33]. Böbrek yetmezliğinde sugammadeks ve roküronyum kompleksinin atılımı azalmış olsa da sugammadeksin etkinliğinin değişmediği ve roküronyuma bağlı rekürarizasyonun meydana gelmediği bildirilmiştir [38].

Sol böbreğin boyu sağ böbreğe göre biraz daha uzundur. Böbrekler ortalama olarak 140-170 gr. ağırlığa sahiptir. Böbreklerin ön yüzde, periton vasıtasıyla intraperitoneal organlarla komşulukları mevcuttur. Sol böbreğin süperioru sürrenal gland, süperior-laterali dalak, süperior-mediali mide, hiler bölgesi pankreas kuyruğu ve inferioru da ince ve kalın barsak ile komşudur. Sağ böbreğin superioru sürrenal gland, süperior-mediali karaciğer, hiler bölgesi duodenum ve inferioru da kalın barsak ile komşudur [41].

Böbrekler uzun eksen boyunca ikiye bölünecek olursa; dış kısım korteks, iç kısım ise medulla olarak isimlendirilen fonksiyonel 2 ana bölgeye ayrılmış olur [42].

Renal pelvis, arter ve venler renal hilusu oluşturur. Minor kaliksler bir araya gelerek üst, orta ve alt major kalikslere açılırlar, majör kaliksler de daha sonra renal pelvise açılırlar [43]. Renal pelvis normalde tamamen intrarenal yerleşimli olmakla birlikte bazen de renal pelvisin bir kısmı ekstrarenal yerleşimli olabilir. Renal pelvis böbreğin alt-orta kısmında üreterle devamlılık göstererek idrarı alt üriner sisteme transfer eder [44].

2.4.2 Böbrek Kan Akımı

70 kg' lık bir insanın her iki böbreğine ortalama dakikada 1200 ml kan akışı sağlanmaktadır ve bu da kalp debisinin %21'i kadarını oluşturur. Böbreğe gelen bu kanın çoğunu renal korteks almaktadır.

Böbrek medullası ise kan ihtiyacını, vaza rekta denilen özelleşmiş peritübüler kapiller sistemden sağlamaktadır. Vaza rektadaki damarlar Henle kıvrımlarına paralel olarak medullanın derinliklerine kadar ilerler daha sonra da kortekse dönerek korteksten venöz sisteme drene olurlar. Vaza rektalar idrar dansitesinin sağlanmasında önemli role sahip yapılardır [45].

2.4.3 Böbreğin Fizyolojisi

Nefron böbreğin en küçük fonksiyonel birimidir, her böbrekte ortalama 1000000-1200000 adet nefron bulunmaktadır [46]. Yaşla birlikte veya herhangi bir hasarlanmaya bağlı olarak zamanla böbrekteki nefron sayısı azalmaktadır. 40 yaşından sonra her 10 yılda ortalama %10 oranında nefron sayısında azalma meydana gelir. Nefronlar glomerüller ve toplayıcı tübülerden oluşur. Glomerüller kısım kandan sıvının filtrasyonunun sağlandığı kısımken toplayıcı tübüler kısım ise filtratın idrara dönüştüğü kısımdır.

Glomerül, dallanan ve anastomoz oluşturan kapiller bir ağdan meydana gelmektedir. Glomerüller hidrostatik basınç diğer kapiller hidrostatik basınçtan daha yüksektir. Glomerülü

oluşturan kapillerler epitel hücreleri ile örtülmüş durumdadır ve tüm glomerüller yapı Bowman kapsülü ile sarılı halde bulunur. Glomerülden filtre olan sıvı, Bowman kapsülü içine ve daha sonra da böbrek korteksinde bulunan proksimal tübüle geçer. Proksimal tübülden de böbrek medullasına doğru henle kıvrımına geçer. Henle kıvrımının inen ve çıkan bölümleri mevcuttur, inen ve çıkan henlenin alt duvarları oldukça incedir. Bundan dolayı henle kıvrımının bu bölümleri ince kısım olarak adlandırılmaktadır. Henle kıvrımının inen kolunun kortekse doğru dönüş yapan bölümünden sonraki kısmı, diğer tübüler yapılardaki gibi duvar yapıları kalındır. Henle kıvrımının bu bölümüne de çıkan kolun kalın kısmı olarak isimlendirilir. Henle kıvrımının çıkan kalın kolunun sonunda maküla densa bulunur. Maküla densanın rolü nefronların fonksiyonlarının kontrolünü sağlamaktır. Sıvı maküla densadan sonra korteks yerleşimli distal tübüllere, birleştirici tübüllere ve daha sonra da kortikal toplayıcı tübüllere geçer. 8-10 adet kortikal toplayıcı kanal birleşerek medullada seyreden ve daha geniş olan toplayıcı kanalı meydana getirir. Toplayıcı kanallar da bir araya gelerek daha geniş kanallar aracılığıyla renal papilla ucundan renal pelvise drene olur [47].

Normal bir erişkin günde ortalama 1000-1500 ml idrar çıkartır. Glomerüler filtrasyon tübüler filtrasyon ve sekresyon sonrası oluşan bu son idrar; normal koşullar altında 0°C'de 1015-1025 dansiteye sahiptir. İdrar dansitesi idrar miktarı ile ters orantılı olarak değişmektedir. Böbrekler kişinin hidrasyon durumuna göre, idrarı dilüe (1001- 1002'ye kadar) veya konsantre (1035-1036'ya kadar) etme yeteneğine sahiptirler. İdrar dansitesinin 1008-1010 civarında olmasına izoosmotik idrar diyoruz. İdrar pH'sı farklı nedenlere bağlı olarak belirli sınırlar içinde değişerek asit-baz dengesinin düzenlenmesinde rol alır. Normal idrar pH'sı 6.2 civarında olmakla birlikte 4.8-8.2 aralığında değişebilmektedir [48].

2.4.4 Böbreğin Histolojisi

Hilum böbreğin medial kenarında olan üreter ve damarsal yapıların meydana getirdiği kısımdır. Üreterler hilumda genişleyerek renal pelvisi meydana getirirler. Renal pelvis dallanarak kaliksleri meydana getirir. Böbreklerde genellikle iki majör, 10-12 minör kaliks bulunur. Böbrek dışta korteks ve içte medulla olarak ikiye ayrılır. Nefron böbreğin en küçük fonksiyonel birimidir, her böbrekte ortalama 1000000-1200000 adet nefron bulunmaktadır. Her nefron renal cisimcik, proksimal tübül, henle kıvrımı ve distal tübülden oluşmaktadır. Renal cisimcik glomerülden oluşur. Glomerül Bowman kapsülü ile sarılmış şekilde bulunur. Bowman kapsülü iki tabakalı epitelyal bir kapsülden meydana gelir. Bowman kapsülü iç (visseral) ve dış (pariyetal) tabakadan oluşur. Visseral tabaka glomerülün kapillerlerini örter.

Pariyetal tabaka ince retiküler lif tabakası ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelden oluşmaktadır.

Glomerülü saran visseral yaprağın hücreleri podosit denilen yıldız şekilli uzantılara sahiptir. Glomerül kapillerlerinde, endotel hücreleri ve podositler dışında mezengimal hücreler de bulunmaktadır. Mezengimal hücreler, birden fazla kapillerleri ortak saran bazal lamina kılıfının bulunduğu bölgelerde kapiller duvara tutunur. Mezengimal hücreler amorf matriks sentezleyerek kapiller duvara destek olurlar.

Bowman kapsülünün pariyetal yaprağındaki tek katlı yassı epitel proksimal kıvrımlı tübüllerde prizmatik epitel olarak devam eder. Hücre apeksinde çok sayıda mikrovillus bulunmaktadır, mikrovilluslar fırçamsı kenarı oluştururlar. Hücreler büyük olduğundan dolayı her enine kesitte, hücrelerin merkezinde üç ile beş adet küre biçiminde çekirdek bulunur.

Proksimal tübülün kıvrımlı parçası nefronun en uzun ve geniş parçasını oluşturmaktadır ve kortekste bulunur, proksimal tübülün düz parçası ise medullaya doğru seyrederek henle kulpunun kalın inen kısmını meydana getirir.

Henle kulbu kalın inen kol, ince inen kol, çıkan ince kol ve kalın çıkan koldan meydana gelmektedir. Distal kıvrımlı tübül tek katlı kübik epitel ile kaplanmıştır. Distal tübül hücrelerinde fırçamsı kenarlar bulunmamaktadır. Maküla densa özelleşmiş tübül epitel hücrelerinden meydana gelir ve afferent arteriollere yakın konumda bulunmaktadır. Jukstaglomerüler hücreler, renal cisimciğin bitişiğindeki afferent arteriyolün tunika medya tabakasındaki modifiye düz kas hücrelerine verilen isimdir [49].

2.4.5 Böbreğin Fonksiyonları

Böbreklerin ana fonksiyonu fazla su ve elektrolitleri idrar vasıtasıyla vücuttan dışarı atılımını sağlayarak plazma hacmini, elektrolit dengesini düzenler ve böylece kan basıncının düzenlenmesini sağlar. Böbrekler vücutta bulunan sodyum (Na^+), potasyum (K^+), kalsiyum (Ca^{++}), bikarbonat, klor (Cl^-), hidrojen, fosfat vb. elektrolitlerin plazma düzeylerinin ayarlanmasında temel görevli organlardır. Böbrekler su ve elektrolit dengesini düzenlenmesinin dışında, metabolik atıkların, vücuttaki yabancı maddelerin ve diğer solüt yüklerin idrarla atılmasını da sağlamaktadır. Böbrekler tüm bu fonksiyonlarını filtrasyon, reabsorbsiyon ve sekresyon yaparak yerine getirirler [50].

2.4.5.1 Glomerüler Filtrasyon

Glomerüler filtrasyon ile idrar oluşmaya başlar. Glomerüler filtrat normalde kan plazmasına çok benzemektedir fakat glomerüler filtrattaki protein içeriği daha düşüktür. Normalde peptit hormonları gibi küçük proteinler glomerüler filtrasyon sonucunda filtrata geçerken, albumin gibi daha büyük plazma proteinleri ile globulinler glomerüler filtrasyon sırasında filtrasyon bariyerinden geçemediklerinden dolayı filtrata geçemezler. Kandaki düşük molekül ağırlıklı birçok madde serbestçe filtre edilirler. Serbestçe filtre edilebilen bu maddeler; sodyum, klor, potasyum ve bikarbonat gibi iyonlar, glukoz, üre, aminoasitler, nötral organik maddeler, insulin ve antidiüretik hormon (ADH) gibi peptidlerden oluşmaktadır [51].

Birim zamanda filtre edilen hacim glomerüler filtrasyon hızı (GFH) olarak tanımlanır. Sağlıklı, erişkin genç erkeklerde GFH 180 L/gün' dür; bu 125 mL/dk' ya denk gelmektedir. İnsanlardaki ortalama plazma hacmi yaklaşık olarak 3 litredir, böbreklerden günde plazma hacminin 60 katı kadar sıvı filtre edilmektedir [52].

2.4.5.2 Su ve Elektrolit Dengesinin Ayarlanması

Böbrekler, vücuttaki toplam su miktarını değiştirmeden idrarla su atılımında değişiklikler oluşturarak sıvı alımını da etkileyip vücut su dengesini ayarlarlar. Aynı zamanda böbrekler suyla birlikte değişen oranlarda minerallerin de alım ve atılımını etkileyerek dengeleyebilirler. Proksimal tübülerden özellikle su, küçük molekül ağırlıklı proteinler, glikoz ve bazı iyonlar geri emilirler. Bu bölgedeki geri emilim su ile birlikte olduğundan dolayı proksimal tübülerdeki ozmolarite izotoniktir. Henle kulpu ise primer idrarın hipertonic durumdaki sekonder idrara dönüşmesinde rol oynar. Henle kulpunun inen ince kolunun suya geçirgen olması, sodyum ve diğer solütlere orta derecede geçirgen olması, çıkan kalın kolun ise suya geçirgen olmayıp diğer solüt iyonlara geçirgen olmasından dolayı, böbrek medullasının derinliklerinde, proksimal tübülerdeki ultrafiltrata göre daha hipertonic bir osmolaritenin meydana gelmesine neden olur. Böylece difüzyon ve aktif taşıma ile elektrolitlerin değişimi de daha kolay hale gelmiş olur. Henle kulpunun çıkan kalın kolu suya karşı geçirgen değildir. Henle kulpunun çıkan kalın kolundan kortekse doğru gidildikçe daha hipotonik bir osmolarite meydana gelir[52]. Distal tübülden çok daha yoğun ortama doğru aktif bir şekilde sodyum iyonu transportu sağlanabilir. Bu mekanizma, su emilim veya atılımındaki dengenin sağlanması açısından oldukça önemlidir. Bu sistem renin, aldosteron, anjiotensin ve vazopressin gibi hormon ve mediatörler ile kontrol edilerek asit-baz dengesi ve

sıvı elektrolit dengesinin düzenlenmesini sağlarlar böylece homeostazisin sağlanmasında etkin bir şekilde rol oynamış olurlar[53].

2.4.5.3 Arteriyel Kan Basıncının Ayarlanması

Kan basıncı, vücuttaki kan hacmine bağlı olarak değişebilmektedir. Böbrekler de vücutta su ve hacim dengesinin devamlılığını sağlayarak, kan hacminin ayarlanmasına ve böylece kan basıncının düzenlenmesine de katkıda bulunurlar.

2.4.5.4 D Vitamini Sentezinin Düzenlenmesi

D vitamininin sentezlenmesinin son basamağı böbreklerde meydana gelmektedir. Böbrek proksimal tübüllerinde, 25-hidroksikolekalsiferolden D vitamininin aktif formu olan kalsitrol (1,25 dihidroksikolekalsiferol-aktif D3 vitamini) sentezlenir. Kalsitrol kalsiyumun gastrointestinal sistemden geri emiliminde ve kemik yapılarında depolanmasında gereklidir. Kalsitrolün sentezinin ayarlanması, kalsiyum ve fosfor dengesini feed back mekanizma ile kontrol eden hormonlarca düzenlenmektedir. Böbrek yetmezliği gelişen hastalarda D vitamininin sentez eksikliğine bağlı olarak kalsiyumun kemiklerde depolanmasında bozukluk meydana geleceğinden dolayı bu hastalarda anormal kemik yapıları görülür [54].

2.4.5.5 Eritrosit Yapımının Ayarlanması

Eritropoetin, kemikte eritrosit üretiminde görev alan peptid yapılı bir hormondur. Büyük çoğunluğu böbreklerde üretilmekle birlikte az miktarda karaciğerde de sentezlenebilir. Eritropoetin, normalde böbreklerin interstisyumundaki hücreler tarafından salgılanmaktadır. Böbreklerdeki parsiyel oksijen basıncındaki azalma eritropoetin sekresyonunu uyarır ve böylece eritropoetin de kemik iliğini uyararak eritrosit üretiminin artmasını sağlar. Böbrek hastalıklarında eritropoetin yapımı ve sekresyonu bozulacağından dolayı, kemik iliği aktivitesi azalır ve bunun sonucunda da anemi meydana gelir [50].

2.4.5.6 Glukoneogenez

Vücuda alınan karbonhidratın yetersiz olması durumunda karbonhidrat olmayan kaynaklardan yeni glukoz sentezlenir [51]. Glukoneogenez primer olarak karaciğerde olmakla birlikte uzamış açlık durumunda böbreklerde de meydana gelir [50].

2.4.5.7 Metabolik Artıkların Atılımı

Vücut metabolizması sonrası oluşan son ürünler, vücutta yüksek konsantrasyonlara çıkınca vücut için zararlı hale gelirler. Bu son ürünlerin vücuda zarar vermemesi için vücuttan atılması gerekmektedir. Aminoasitler üre olarak, nükleik asitler ürik asit olarak, kas yıkım

ürünleri ise kreatinin olarak idrar ile atılır. Safra tuzları, organik asitler, oksalatlar ve bazlar da böbrekten tübüllere sekresyonla atılırlar. Penisilin ve salisilatlar gibi birçok ilaç da böbrekler ile vücuttan atılır. Böbrekler aynı zamanda asit baz dengesinin düzenlenmesinde de çok önemlidir. Metabolik fonksiyonların yerine getirilmesi için pH' ın belli bir aralıkta tutulması gerekmektedir. Böbrekler, akciğer ve karaciğer ile uyum içinde çalışarak pH'nın dar bir aralıkta (7,35- 7,45) tutulmasını sağlar [50].

2.5 İskemi Reperfüzyon Hasarı

2.5.1 İskemik Hasar

İskemi; vücut metabolizması için gerekli maddelerin eksikliğine neden olan “doku perfüzyonunun bozulması” olarak tanımlanır. İskemik dönemde metabolik fonksiyonlarda bozulmalar oluşmaya başlar. Başlangıçta anaerobik glikoliz ile glikojen yıkımı meydana gelir bunun sonucunda iki molekül ATP ve laktik asit oluşur. Bu süreç doku pH'ında düşmeye neden olarak negatif geri bildirim ile ATP üretimde inhibisyon oluşturur [55].

Hücre ATP eksikliği, Na⁺ /K⁺ ve Ca²⁺ kanalları gibi ATP bağımlı iyon kanallarının fonksiyon bozukluğuna ve membranlar arasındaki iyon gradient farkının bozulmasına neden olur. Bunların sonucunda hücre içi sodyum miktarında artış meydana gelir. Osmotik basıncın dengelenmesi amacıyla sodyum ile birlikte hücre içine su geçişi de olduğundan dolayı hücresel şişme meydana gelir. Böylece doku ödemi oluşur [56]. Kalsiyum hücre işlevlerin sağlanması için önemli olan bir iyondur. Kalsiyum mitokondriden hücre içi veya hücre dışı boşluğa geçebilir. Kalsiyum, hücre bir enzim olan kalpein gibi hücre proteazları uyararak ksantin dehidrojenazı ksantin oksidaza dönüştürür [55]. Aynı zamanda iskemiyle birlikte; membran lipitlerini serbest yağ asitlerine dönüştüren fosfolipazlar ve lizozimler aktif hale geçerler. Fosfolipaz A2 hücre zarındaki yağ asitlerini araşidonik asite çevirir. Araşidonik asit; lökotrien ve prostoglandinler gibi inflamatuvar moleküllerin öncüsü olan doymamış bir yağ asitidir. Lizozimler ise proteolitik enzimlerdir, patojenleri ve nekrotik hücreleri sindirirler [55, 57].

İskemi ile birlikte dokuda hasar meydana gelir. Dokudaki bu hasara yanıtın oluşmasına neden olan birçok gen aktive veya inhibe olmaktadır. İmmun sistem hücreleri, sitokinler ve inflamatuvar mediyatörler ile ilgili genler genellikle aktive olurken, mitokondrial oksidasyon ve yağ asidi oksidasyonu ile ilgili genler ise inhibe olurlar. İskemi sonucunda meydana gelen hipoksi, hipoksi ile indüklenen faktör -1 (HIF-1) ve nükleer faktör-kappa beta (NF-kB) gibi transkripsiyon faktörlerini de uyarır. HIF-1, hücrelerin hipoksiye adaptasyon

yanıtının sağlanmasında önemli görevleri olan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), glukoz taşıyıcı-1 ve eritropoetin gibi genlerin de uyarılmasını sağlar [58]. Hemorajik şok geçirmiş rat akciğerlerinde yapılan çalışmalarda, hem HIF-1'in hem de siklooksijenaz -2 (COX-2)'nin hipoksiye bağlı olarak indüklenmiş olduğu tespit edilmiştir. COX-2 nitrik oksit ve prostoglandinlerin hızlı ve aşırı üretimleri vücutta artmış inflamatuvar yanıt ve organlarda hasarlanmaya neden olur [59].

2.5.2 Reperfüzyon Hasarı

İskemi; doku ve organlarda hasar oluşturur, iskemik olan bölgedeki perfüzyonun tekrar sağlanması da mevcut olan doku veya organ hasarının daha da artmasına neden olabilmektedir [57]. Buna reperfüzyona bağlı hasar denir. Reperfüzyon hasarı ile ilgili ilk bulgular 1960'larda; majör arterlerin klempe süresinin uzaması sonrası tekrardan perfüzyonun sağlanması ile sistemik şok ve asidoz tablosu ile fark edilmiştir. Bu bulgular ile oluşan tablo o dönemde "deklemping fenomeni" olarak isimlendirilmiştir [60]. Reperfüzyon hasarı ilk kez 1975 tarihinde aort kapak replasmanı operasyonu sonrası ölen hastalar üzerinde yapılan araştırmada tanımlanmıştır. Bu hastalara yapılan otopsi bulgularına bakılarak hastaların ölüm nedeninin 70'dk dan uzun süren kardiyopulmoner baypas sonrası meydana gelen subendotelial hemorajik nekroza bağlı olduğu tespit edildi.

Reperfüzyon sonrası gelişen hasarın en önemli parametrelerinden birinin özellikle endotelde meydana gelen mikrovasküler yapılarındaki hasar olduğu düşünülmektedir [61]. Reperfüzyonun yeniden sağlanması ile birlikte lökositlerin bölgeye transferi ve lökosit-endotel etkileşimleri, reaktif oksijen türevlerinin ortamda artması ile ortamda immun kompleksler ve kompleman aktivasyonu meydana gelerek hücre ve doku hasarının oluşmasına neden olur [57].

İskemi reperfüzyon (İR) hasarı sıklıkla organ transplantasyonları, abdominal cerrahi, kardiyotorasik cerrahiler, ekstremitte cerrahisi, beyin cerrahisi ve vasküler girişimler gibi operasyonlarda karşımıza çıkar [62].

Özetleyecek olursak;

a) İskemi nedeniyle gelişen hipoksi sonucunda adenilat siklaz aktivitesi ve siklik AMP (cAMP) düzeylerinde azalma meydana gelir, vasküler geçirgenliğinde meydana gelen artışa bağlı olarak hücrelerin endotel bariyer fonksiyonlarında bozulma olur [62].

- b) İskemi-reperfüzyon apoptozis, otofaji ilişkili hücre ölüm ve nekrozu içine alan programlanmış hücre ölümünü aktive eder [63].
- c) İskemi süresince HIF, NF-kB gibi bazı genlerin ekspresyonlarında değişiklikler olur [64].
- d) Reperfüzyon sonrası oluşan hasara, vücutta doğal antikorların yeni antijenleri tanınması ve kompleman sistem aktivasyonu ile otoimmün yanıt gelişir [65].
- e) İskemi ve reperfüzyon sonrası hem doğal bağışıklık hem de kazanılmış bağışıklık sistemleri devreye girer [66].
- f) Reperfüzyon sırasında sitokinlerin, nötrofillerin ve bazı lökositlerin özellikle post-kapiller venüllerde obstrüksiyona neden olabildiği tespit edilmiştir [55].
- g) İskemi reperfüzyon hasarı sadece tek bir organda meydana gelmiş olsa bile uzak organlarda da hasar oluşmasına neden olabilir. Bunun nedeni reperfüzyon ile dolaşım sistemine geçen lökositlerin ve inflamatuvar sitokinlerin uzak organlardaki vasküler endotel hücrelerini uyarmasından kaynaklanmaktadır [67].

2.5.3 İskemi Reperfüzyon Hasarında Serbest Radikaller

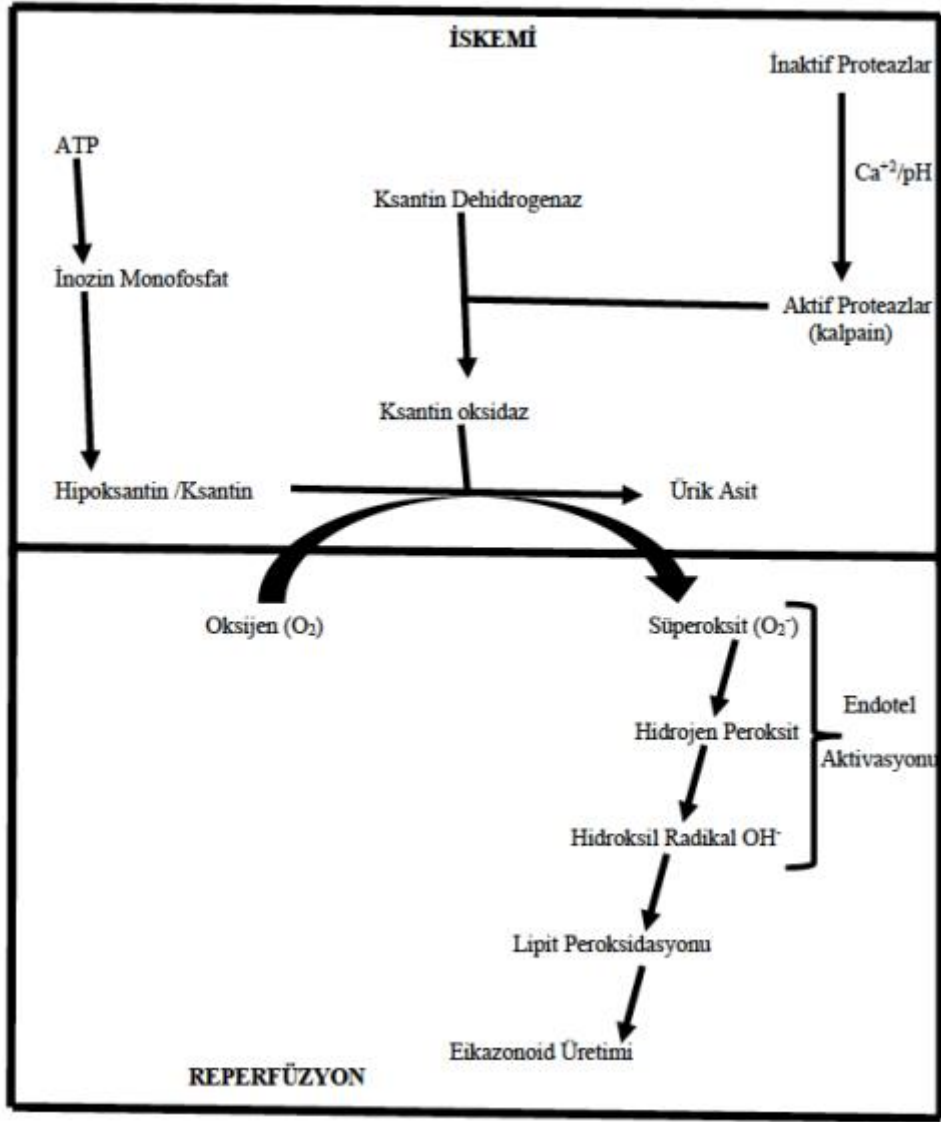
Serbest radikaller yapılarında eşlenmemiş elektron bulunduran kararsız moleküllerden oluşurlar. Lipitler, proteinler ve deoksiribonükleik asit (DNA) gibi moleküller ile tepkimeye girebilme yeteneğine sahiptirler [68]. İR hasarında, serbest oksijen radikallerinin dokularda zararlı olduğu bilinmektedir. İskemi ile birlikte; ATP yıkımı sonucunda hipoksantin meydana gelir. İskemik dokunun tekrardan reperfüze olup moleküler oksijenin dokuya ulaşması ile birlikte ksantin oksidaz enzimi hipoksantinden ürik asit, oksijenden de süperoksit (O_2^-) meydana getirir. Daha sonra süperoksit de hidrojenperoksit (H_2O_2) ve hidroksil radikaline (OH^-) çevirilir. Bu biyokimyasal tepkimelerin sonucunda hücre membranlarındaki lipit peroksidasyonu ile proinflamatuvar eikozanoid maddeler üretilir (Şekil 2.3) [55]. Serbest oksijen radikalleri özellikle lökositleri, trombositleri ve endotelial hücreleri etkileyerek etki oluştururlar [69]. Endotelial hücrelerin uyarılmalarıyla birlikte; E-selektin, interselüler adhezyon molekülü-1 (ICAM-1), endotel-lökosit adhezyon molekülü-1 (ELAM-1), vasküler hücre adhezyon molekülü-1 (VCAM-1), interlökin-8 (IL-8), plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1) gibi mediyatörler salgılanır. Salgılanan bu moleküller nötrofiller ile endotel arasındaki etkileşimde önemli role sahiptir [55].

Nitrik oksit (NO), L-arjininden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından sentezlenir. Temel (nNOS), indüklenebilir (iNOS) ve endotelial (eNOS) olmak üzere 3 tip NOS enzimi

bulunur. İskeminin başlangıç döneminde kısa süreliğine eNOS aktivitesinin olduğu fakat daha sonra reperfüzyonun başlamasıyla artmış bir iNOS yanıtının meydana geldiği gösterilmiştir. iNOS ile meydana gelen NO, süperoksit ile reaksiyona girerek peroksinitrit (ONOO-) oluşturur. Peroksinitrit, proteinlerdeki tirozin uçları nitratlayarak ve DNA'da kırılmalara neden olarak hücre ve dokularda ciddi hasarların oluşumuna neden olan kararsız serbest nitrojen radikalidir [55, 70]. Lökositlerde bulunan NADPH oksidaz enzimi de iskemi reperfüzyon sırasında süperoksit radikallerin meydana çıkmasına neden olabilir [71].

Tablo2.1 İskemi Reperfüzyon Hasarında Yer Alan Serbest Radikaller ve Kaynakları[55]

<u>Major serbest radikaller</u>
Süperoksit anyonu (O_2^-)
Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil radikali ($OH^\cdot$)
Nikrik oksit (NO)
Peroksinitrit (ONOO $^-$)
<u>Minör serbest radikaller</u>
Lipid hidroksiperoksit
Lipid peroksil radikali
Lipit alkoksil radikali
Tiyol radikali
<u>İskemi reperfüzyon hasarına neden olan serbest radikallerin kaynakları</u>
Ksantin oksidaz sistemi
Aktive nötrofiller
Mitokondriyal elektron transport zinciri
Araşidonik asit metabolizması
Katekolaminlerin oto-oksidasyonu



Şekil 2.3. İskemi Reperfüzyon Sırasında Serbest Radikallerin Üretilmesi[55]

2.5.4 İskemi Reperfüzyon Hasarında İnflamatuar Moleküller ve Endotel-Lökosit Etkileşimleri

İskemi reperfüzyon hasarına bağlı meydana gelen serbest radikaller; hücre membranında bulunan lipidlerin peroksidasyonu ile araşidonik asitlerin oluşmasına neden olur. Araşidonik asitler; lökotrienler, tromboksan ve prostoglandinlerin prekürsörleridir. Lökotrienler endotel hücre iskeletini düzenleyerek vasküler permeabiliteyi artırmakla birlikte düz kas kontraksiyonlarına neden olarak vazokonstriksiyona da neden olabilir [72]. Yapılan çalışmalarda tromboksan A2'nin iskelet kası İR hasarına bağlı dakikalar içerisinde artarak

vazokonstriksiyon, trombosit agregasyonu oluşturduğu tespit edilmiş [73]. Prostaglandinler normalde vazodilatatör etkileri ile İR hasarında koruyucu fonksiyonlarlar göstermekle birlikte kısa ömürlü olmaları ve dolaşımdaki miktarlarının hızla azalması ile inhibe edilemeyen vazokonstriksiyonun oluşmasına neden olabilir [55].

Hipoksi ve İR hasarına bağlı olarak meydana gelen inflamatuvar süreçte başlangıçta endotel hücrelerinden olmakla birlikte makrofaj, lenfosit ve nötrofillerden birçok inflamatuvar molekül salınır. Tümör nekroz faktör alfa ve beta (TNF-a ve b), IL- 1b, IL-2 ,IL-6 ,IL-11, IL-12 ve IL-17 gibi bazı interlökinler ve ICAM-1, VCAM-1, E-selektin, P-selektin gibi adhezyon molekülleri bu inflamatuvar süreçte salınan önemli moleküllerdir [70]. TNF-a, nötrofil sekestrasyonu ve geçirgenliğin artmasına neden olmakla birlikte nötrofil-endotel bağlanmasında önemli fonksiyona sahip ICAM-1 proteinin de sentezini artırır [55, 74]. IL-1a nötrofil infiltrasyonunu uyarmakla birlikte TNF-a gibi vasküler endotel hücrelerinden ICAM-1'in sentezini artırır [55]. IL-6; IL-1 ve TNF-a' ya cevap olarak monosit, fibroblast ve endoteliyal hücrelerde sentezlenen proinflamatuvar proteindir. İL-6 endoteliyal geçirgenliğini artırmakla birlikte TNF-a ve IL-1a gibi ICAM-1 proteinin üretimini de artırır [55]. Yapılan çalışmalarda transplante böbrekte reperfüzyonun sağlanması ile ilk 30 dakikada IL-6 miktarının ciddi şekilde arttığı tespit edilmiş [75].

İR hasarının tam olarak meydana gelmesi için lökositlerin doku ile bağlantı oluşturması gerekmektedir. Lökositin üstündeki adhezyon molekülleri ile endoteliyal hücrelerin üzerindeki ligandların iyi bir şekilde bağlantısının sağlanması ile dolaşımdan dokuya migrasyon sağlanmaktadır. Selektin proteinler, nötrofiller ile endoteliyal hücreler arasındaki bağlantının sağlanmasında önemli fonksiyonlara sahiptir. L-selektin nötrofiller üzerinde bulunurken, P-selektinler ise endoteliyal hücrelerde bulunur ve TNF-a, serbest radikaller gibi diğer uyarılara cevap olarak hücre yüzeyine hareket eder. İntegrin ve immunglobulin süper gen ailesi adhezyon molekülleri sıkı bağlantının oluşmasında ve damar dışına çıkma aşamalarında önemli rollere sahiptir. CD11a ve CD18 lökositlerin yüzeyinde bulunan integrin proteinlerdir, bu proteinler endotel yüzeyindeki ICAM-1 molekülü ile bağlantı oluştururlar. Serbest oksijen radikalleri, TNF-a ve IL-1 ile meydana gelen uyarılar sonucunda CD11a/CD18 ve ICAM-1 bağlantısı oluşturularak sıkı adhezyon oluşturulur daha sonra da kemotaktik mediyatörler salınır, bu mediyatörlerin etkisi ile ekstravazasyon oluşur [55, 70].

2.6 Akut Böbrek Hasarı

Akut böbrek hasarı (ABH), günler-haftalar gibi kısa zaman içinde meydana gelen böbrek fonksiyonlarındaki bozulmaları tanımlar. Böbrekte meydana gelen değişiklikler genellikle glomerüler filtrasyon hızında azalma, kan üre nitrojen miktarında artma ve proteinüriyi kapsamaktadır [76]. Akut böbrek hasarı (ABH) cerrahi veya dahili sağlık problemlere bağlı olarak renal perfüzyon basıncında meydana gelen azalmalarla ilişkilidir [77]. 20. yüzyılı başlarında akut böbrek yetmezliği terimi sadece idrar miktarının azalması olarak tanımlanırken yapılan çok merkezli gözlemsel kohort çalışmaları ve geniş veri tabanlarına bağlı olarak günümüzde hastalığa bütünsel bakış açısı getirilmiş ve günümüzde akut böbrek hasarı terimi, akut böbrek yetmezliği teriminin yerini almıştır. Böylece böbreğin hem yapısal hem de fonksiyonel hastalıkları bu kapsama alınmış oldu [78]. ABH'nın tanımlanmasında fikir birliği olarak serum kreatinin ve idrar çıkışını göz önünde bulunduran bazı konsensuslar bulunmaktadır. Bu konsensuslar çoğunlukla; Risk Injury Failure Lost End Stage Kidney Disease (RIFLE), Acute Kidney Injury Network (AKIN) ve The Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) kriterlerini kullanmaktadırlar [79].

ABH, tanısının konulması ve sonraki yönetimi açısından pre-renal, renal ve post-renal olarak 3 ana kategoriye ayrılır. Sepsis, hipovolemi, hipotansiyon ve hipoperfüzyon başlıca pre-renal ABH nedenleriyken, glomerular veya tubuler hasarlar, interstityel nefritler, vasküler ve trombotik hastalıklar renal ABH nedenlerini oluşturur, yapısal olarak üreter obstrüksiyonlarına neden olan üreter taşı ve maligniteler gibi nedenler de post-renal ABH'ya neden olur.

Tablo 2.2. Akut Böbrek Hasarının Sınıflandırılması [80].

RIFLE		AKIN		KDIGO		İdrar
Evre	Kreatinin	Evre	Kreatinin	Evre	Kreatinin	çıkışı
Risk	Serum Kreatinin bazal değerden ≥ 1.5 katıan fazla artış veya GFR'de ≥ 25 'den fazla azalma	1	Serum kreatinininde son 48 saat içinde bazal değerden ≥ 1.5 kat artış veya ≥ 0.3 mg/dl artış	1	Serum kreatinininde son 48 saat içinde ≥ 0.3 mg/dl artış veya son 7 gün içinde 1.5-1.9 kat artış	Son 6 saatte <0.5 ml/kg/saat
Injury	Serum Kreatinin bazal değerden ≥ 2 katıan fazla artış veya GFR'de ≥ 50 'den fazla azalma	2	Serum kreatinin bazal değerden 2 kat artış	2	Serum kreatinininde son 7 günde 2.0-2.9 kat artış	Son 12 saatte <0.5 ml/kg/saat
Failure	Serum Kreatinin bazal değerden ≥ 3 katıan fazla artış veya GFR'de ≥ 75 'ten fazla azalma	3	Serum kreatinin bazal değerden ≥ 3 kat artış veya serum kreatinin ≥ 4.0 mg /dl iken > 0.5 mg/dl artış veya RRT'ne başlanması	3	Son 7 günde serum kreatinin bazal değerden ≥ 3 kat artış veya serum kreatinin ≥ 4.0 mg /dl iken > 0.5 mg/dl artış veya RRT'ne başlanması	Son 24 saatte <0.3 ml/kg/saat veya >12 saat süren anüri
Loss of Function	>4 haftadır kalıcı böbrek fonksiyon kaybı					
End stage disease	Son dönem böbrek yetmezliği (>3 ay)					

RIFLE: Risk, Injury, Failure, Loss of Kidney Function, End Stage Kidney Disease; AKIN: Acute Kidney Injury Network; KDIGO: Kidney Disease: Improving Global Outcomes , GFR: Glomeruler Filtrasyon Hızı, RRT: Renal Replasman Tedavisi

İdrar çıkışı her üç kriter için de ortak değerler ile evrelendirir.

2.6.1 İskemi Reperfüzyon Böbrek Hasarı

Böbrek kan akımı tübülöglomeruler geri bildirim ve miyojenik mekanizmalar tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilen otoregülasyon mekanizmaya sahiptir, bu mekanizmalar ile gerekli oksijen ve perfüzyon sağlanır [81]. İskemi reperfüzyon hasarı ABH'nın %60'ından sorumludur. Sınıflandırma yöntemlerinden ziyade IR hasarının patofizyolojik mekanizması daha çok önem arzeder. Temel patofizyolojik mekanizma; nefronlardaki yetersiz mikrosirkulatuar dolaşıma bağlı gelişen hipoksi ile birlikte oksidatif stresin istenmeyen etkileri ABH'nın ana etyolojisini oluşturduğu düşünülmektedir [82].

Sepsis, iskemi, toksin ve hemodinamik değişiklikler gibi renal hasar oluşturabilecek nedenlere bakılmadan akut dönemde mutlaka inflamatuvar bir yanıt oluşur. Akut dönemde meydana gelen bu yanıtla birlikte olan hipoksi durumunda glukoz metabolizması etkilenecek

anaerobik metabolizma aktifleşir. Yetersiz ATP üretimi sonucunda epiteliyal Na^+ taşınmasında bozulma meydana gelir ve hücre içinde Na^+ konsantrasyonunda artış görülür. Hücre içinde artan Na^+ hücre içinde ödem oluşmasına ve sonrasında da hücre membran bütünlüğünün bozulmasına sebep olur. Özellikle endoplazmik retikulumun yapısındaki bozulma Ca^{+2} sekresyonuna neden olarak kalpain ve kaspazların aktivasyonuna sebep olarak tübüler hücrenin nekroza ve apoptoza gitmesine neden olur. Tübüler hücrelerdeki hasarın başlamış olması, renal hasarın irreversibl faza geçtiğini gösterir. Proksimal tübülerdeki fırçamsı kenar kaybı, apoptotik veya nekrotik tübüllerdeki hücre kaybı ile distal tübüllerdeki kast formasyonu akut tübüler nekroz için karakteristik bulgulardır. Tübüllerde meydana gelen obstrüksiyonla beraber sıvı-elektrolit dengesinin de bozulması metabolik son ürünlerin atılımında azalma meydana getirir. Hasarlanmış tübüllerde serbest radikal üretiminde artma görülür, hasarlanmış bölgede inflamasyonla beraber inflamatuvar hücre sayısında artış ve bununla birlikte inflamatuvar prostaglandinlerin vazokonstriktif etkisiyle obstrüksiyon meydana gelir ve böylece bölgesel mikrosirkülatuvar dolaşım daha da bozulmuş olur. Özetleyecek olursak akut dönemde renal iskemi reperfüzyon hasarının temel patofizyolojisini inflamatuvar hücre infiltrasyonu, mitokondri disfonksiyonu, oksidatif stres ile lipid peroksidasyonu, renin-anjiyotensin sistem aktivasyonu ve nitrik oksit metabolizmasının bozulması oluşturur [83].

2.6.2 Akut Tübüler Nekroz (ATN)

Akut tübüler nekroz (ATN), morfolojik olarak tübül epitelinde meydana gelen hasar ve klinik olarak akut dönemde meydana gelen böbrek fonksiyonlardaki azalmayı içine alan klinikopatolojik bir tanımlamadır. ATN, genellikle reversibl bir hasardır ve ABH'nin en sık sebebinin oluşturur. Tübül epiteli; metabolizma hızının yüksek olması, oksijen ihtiyacının fazla olması, iyon veya organik asitlerin transportu için aktif taşıma sistemini gerektirmesi, kortikal kan akımının bu bölgede en fazla olması nedeniyle, iskemi veya toksinlere bağlı gelişen hasarlara en duyarlı kısım olarak karşımıza çıkar.

İskemi reperfüzyon; ortaya çıkan reaktif oksijen türevleri, ortamdaki artmış kalsiyum, aktifleşen fosfolipazlara bağlı olarak, proksimal tübül hücrelerinde elektriksel polarizasyonda bozulma ve fırçamsı kenarlarda kayıplara neden olur. Buna bağlı olarak daha sonra apoptozis ve nekroz görülebilir. Canlı veya ölü hücrelerin bazal membran zemininden ayrılıp tübül lümenine dökülmesi sonucunda lümen içerisinde kast formasyonu oluşumuna neden olabilir. Oluşan kast formasyonu tübül lümeninde obstrüksiyona neden olarak idrarın geçişine engel olup oliguriye neden olabilir.

Meydana gelen renal hasar erken dönemde fark edilip, etkin şekilde replasman tedavisi yapılacak olursa büyüme faktörlerinin de etkisi ile epitel proliferasyon ve diferansiasyonu sonrasında yeniden tübüler hücre epitelizasyonu oluşur [77, 84].

2.6.3 Akut Böbrek Hasarı Tanısında Kullanılan Yeni Belirteçler

Akut böbrek hasarının mortalite ve morbidite hızı yüksek olduğundan dolayı tanısının erken konulması önemlidir. ABH tanısında geleneksel olarak serum kreatinin düzeylerine ve idrar çıkışına bakılmaktadır. Fakat bu belirteçler böbrek hasarından ziyade daha çok böbreğin fonksiyonları hakkında bilgi verir. Serum kreatinin düzeyi hastanın yaşı, cinsiyeti, kas kitlesi ve hidrasyon durumundan etkilendiğinden akut dönemde gecikmiş tanıya neden olabilir. Bu sorunların olmaması için yeni biyobelirteçlerin gündeme gelme ihtiyacı doğmuştur [85]. Bu amaçla son yıllarda birçok üriner ve plazma proteini araştırılmıştır ve bazılarından umut verici sonuçlar alınmıştır. ABH'ı gösteren ideal erken belirteç; akut böbrek hasarının erken döneminde anlamlı olmalı, invaziv olmayan yöntemlerle tespit edilebilmeli, hücresel hasara özgü olmalı ve prognostik anlamlı bir molekül olmalıdır. Yapılan çalışmalarda Nötrofil jelatinaz- ilişkili lipokalin (NGAL), sistatin-C, böbrek hasar molekülü tip-1 (kindey injury molecule-1), interlökin-18 gibi bazı belirteçlerin ABH tanısının konulmasında serum kreatinine nazaran çok daha doğru sonuçlar verdiği gösterilmiştir [86]. NGAL'ın, bu belirteçler arasında en umut verici moleküllerden biri olduğu düşünülmektedir [87].

2.6.3.1 Nötrofil Jelatinaz-İlişkili Lipokalin (NGAL)

NGAL, lipokalin ailesine ait 25 kDa boyutunda olan bir proteinden oluşur. Lipokalinler bir kaliksi saran 8 beta iplikçiğin meydana getirdiği beta fıçı formda olan bir bileşiktir [88]. NGAL ilk olarak nötrofillerde keşfedilmiştir, nötrofiller dışında karaciğer, böbrek ve epitel hücreleri ile iskemi, inflamasyon ve intoksikasyon gibi bazı durumlarında da üretildiği tespit edilmiştir.

NGAL sağlıklı erişkinlerde birçok farklı hücreler tarafından düşük miktarlarda salgılandığından dolayı sistemik dolaşımda bazal konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Sistemik dolaşımdaki NGAL glomerüler filtrasyona uğradıktan sonra bir kısmı proksimal tübüllerden tekrar geri emilir, bir kısmı da idrara geçer. Bundan dolayı idrarda her zaman çok düşük miktardaki NGAL tespit edilebilir [89]. Akut hasardan çok kısa bir süre sonra, çıkan henle kulpunun kalın kolu, distal tübül ve toplayıcı kanallardan NGAL sekresyonu meydana gelir. Böbrekte meydana gelen bu hasardan dolayı proksimal tübüldeki geri emilimde de bozulma meydana gelir. Böylece hem sistemik dolaşımda hem de idrarda NGAL konsantrasyonunda

artış görülür. NGAL'ın hasardan hemen sonra yapımında artış meydana gelerek sistemik dolaşımdaki konsantrasyonu arttığından dolayı ABH'nın tespitinde kreatinine göre daha üstün bir marker olduğu düşünülmektedir [90]. Bazı maligniteler ve sepsiste de NGAL üretiminde artış olabileceğinden ayırıcı tanıda ekstarrenal nedenler de gözönünde bulundurularak dikkatli olunmalıdır [91]. NGAL bakteriyel sideroforları yüksek affinite ile bağlayıp demirin hücre içine taşınmasını sağlayarak bakteriyel çoğalmayı önler. Aynı zamanda, anti-apoptotik etkisi ve böbrek tübül hücrelerinde proliferasyonunu artırdığı tespit edilmiştir [86, 92].

Ratlarda, böbrek iskemi reperfüzyon hasarına bakılan bir çalışmada hasar görmüş böbreklerden NGAL sekresyonunun ilk 3 saatte anlamlı derecede yükseldiği, buna karşın serum kreatininindeki yükselmelerin daha düşük seviyelerde olduğu tespit edilmiştir. Anlamlı derecede serum kreatinin değerlerindeki yükseklik sadece bilateral renal iskemi durumlarında görülürken, NGAL'deki anlamlı yükseklik ise tek taraflı iskemi durumunda da görülebilmektedir [93]. Arakawa ve ark. tarafından 20 dakika iskemi meydana getirilerek oluşturulan denek grubundaki ratlarda yapılan, renal iskemi reperfüzyon hasarının NGAL üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada üriner NGAL konsantrasyonlarında anlamlı yükseliş ve NGAL protein üretiminin pik seviyelere çıktığı tespit edilmiştir [94]. Yapılan çalışmalarda; ABH'nın tanısının konulmasında NGAL'in serum kreatinine göre zaman açısından daha üstün olduğu, erken dönemde ABH'nın tanısının konulmasında önemli bir belirteç olduğu tespit edilmiştir.

2.7 İskemi Reperfüzyon Hasarında Çalışılan Biyokimyasal Mediyatörler

2.7.1 Glutasyon (GSH)

Glutasyon (GSH), birçok hücrede bulunan tripeptid yapısındaki indirgenmiş glutatyondur. GSH L-glutamat, L-sistein ve glisinden iki basamakta sentezlenir ve sentez sırasında oluşan her peptid için bir molekül ATP kullanılır. GSH, hemoglobin ve diğer eritrosit proteinlerinde bulunan sistein rezidülerini indirgenmiş halde tutarak sülfhidril tamponu sağlanmasında görevlidir. Eritrosit hücrelerindeki GSH/GSSG oranı yaklaşık olarak 500'dür. GSH, aktif bölgesinde selenyum bulunan bir enzim olan glutasyon peroksidaz (GPx) enzimi ile H₂O₂ ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidan etki oluşturur ve hidrojen peroksit (H₂O₂)'i alyuvarlardan uzaklaştırır [95]. GSH hidrojen peroksiti veya organik oksitlerin kimyasal olarak detoksifikasyonunu sağlar. GSH yokluğunda hidrojen peroksit birikir. GSSG (yükseltgenmiş glutasyon), GR-az (glutasyon redüktaz) tarafından sürekli GSH'ya indirgenerek GSH miktarı düzenlenir.

2.7.2 Malondialdehid (MDA)

Serbest radikallere bağılı gelişen hücre hasarındaki en önemli mekanizmalardan biri lipid peroksidasyonuna bağılı gelişir [96]. Membrandaki poliansatüre yağ asidlerinin oksidasyonu sonucu meydana gelen malondialdehit (MDA) de lipid peroksidasyonunun en önemli göstergelerinden biridir. MDA'nın tiobarbitürik asid ile reaksiyonu, canlılarda lipid peroksidasyonunun ve serbest radikal aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan en kolay ve en yaygın yöntemdir. MDA, lipid peroksidasyonunun derecesiyle paralellik göstermektedir.

2.7.3 IL-1 β

IL-1 β , IL-1 ailesinin üyesi olan, akut ve kronik inflamasyonda görevli proinflamatuvar bir sitokindir. IL-1 ailesindeki sitokinler, hasarlanmış hücreler tarafından salınan moleküllere karşı dokuda meydana gelen pro-inflamatuvar reaksiyonların yönetilmesini sağlar [97]. Bundan dolayı IL-1 ailesi, doğal bağışıklığın esas mediatörü olarak kabul edilmektedir [98]. IL-1 β temelde makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından salgılanmakla birlikte osteoblastlar, gingival fibroblastlar ve periodontal ligament hücrelerinden de salgılanabilirler [99]. IL-1 β , doğal bağışıklığın farklı aşamalarında rol oynayabilmektedir; kemik rezorpsiyonu, hücre proliferasyonu, doku yıkımı, düz kasların kontraksiyonu ve santral sinir sisteminin hücre fonksiyonları gibi durumlarda rol alırlar [100].

IL-1 β , inflamasyon ile ilişkili gen ekspresyonunun uyarılmasında, İnflamatuvar bölgede lokal kan akışında artış, bu bölgede lökosit sayısında artışı ve nötrofil infiltrasyonunun sağlanmasında görevlidir [101]. Adezyon moleküllerinin üretimi ile birlikte kemotaktik bir sitokin olan IL-8 düzeylerini artırarak inflamatuvar hücrelerin migrasyonunda artış sağlar [102]. Ayrıca makrofajlardan IL-6 ile TNF- α sekresyonunu artırarak kemik rezorpsiyonunda fonksiyon görür [103].

IL-1 β , T hücrelerinin sekresyonunda artışa neden olarak ve hipotalamusun vasküler endotelyumundan prostoglandin E2 (PGE2) üretimini artırarak vücut sıcaklığında yükselmelere neden olan endojen pirojendir [104]. Ayrıca, mast hücrelerinden histamin salınımını uyararak inflamasyon bölgesinde vazodilatasyona neden olur ve damarsal geçirgenliğin artmasını sağlar [105]. Bundan dolayı, inflamasyonun artmaması ve inflamasyona bağılı gelişen bulguların azaltılması için IL-1 β inhibisyonu önem arz etmektedir [106].

2.7.4 TNF- α

TNF- α , kaşektin olarak bilinir, enfeksiyon durumunda lokal inflamatuvar yanıtın uyarılmasını sağlayarak inflamasyondan sorumlu olan başlıca pro-inflamatuvar sitokinlerindendir.

Lokal ve dolaşımdaki TNF- α 'nın başlıca kaynağı monosit ve makrofajlar olmakla birlikte glial hücrelerden ve kardiyak myositlerden de TNF- α sentezlenebilmektedir [107]. TNF- α 'nın uyarısıyla fibroblast ve endotel hücrelerin sekresyonundaki artış, yara iyileşmesinde önemlidir.

TNF- α normal konsantrasyonlarda, doku yenilenmesi ve onarımı, sitotoksik reaksiyonlar, anti-tümoral bağışıklık ve inflamasyonda görevlidir. Doku hasarı, katabolik hormon salınımı ve ateş gibi durumlarda yüksek TNF- α konsantrasyonları görülebilir. TNF- α , lokal ve sistemik inflamatuvar cevapların etkinliği, süresi ve gücünü belirleyebilen pro-inflamatuvar bir sitokin olmakla birlikte anti-inflamatuvar bir sitokin olan IL-10 sekresyonunu artırarak kendi sentezini sınırlayabilmektedir [107].

Bakteriyel inflamasyon durumu ve bağışıklık sisteminin aktivasyonu ile TNF- α üretilir [108]. TNF- α , T yardımcı hücrelerinin ve osteoblastların proliferasyonunda görevlidir [109]. TNF- α , endotel hücrelerde oksidatif stres, kompleman aktivasyonu, vazokonstriktör üretimi, mikrotrombozis, enfarktüs ve tromboksan düzeylerinde artış gibi yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olmaktadır. TNF- α , IL-1 ile birlikte kemokinler, adezyon molekülleri ve PGE2 üretimi gibi birçok reaksiyonda görev almaktadır [110].

TNF- α , IL-1 β ile beraber diğer bir pro-inflamatuvar sitokin olan IL-6'nın temel uyarıcısıdır [111].

2.7.5 Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B)

Nükleer faktör kappa B (NF- κ B) ilk olarak 1986 yılında Ranjan Sen ve David Baltimore tarafından tüm hücrelerde olan bir transkripsiyon faktörü olarak keşfedilmiştir [112]. NF- κ B ilk olarak, fare B lenfosit nükleuslarındaki immunoglobulin κ hafif zincir gen ekspresyonunun düzenlenmesini sağlayan ökaryotik nükleer transkripsiyon faktörü olarak adlandırılmıştır [113]. Daha sonraki dönemlerde yapılan çalışmalarda ise, NF- κ B'nin B ve T lenfositler, monositik-makrofajlar ve fibroblastlar gibi farklı hücre tiplerinde üretilen önemli bir düzenleyici protein olduğu gözlemlenmiştir [114]. NF- κ B, uyaranlar sonucunda oksidatif

strese cevap olarak fonksiyon gören, birçok genin ekspresyonunda ve inflamatuvar genlerin üretiminden sorumlu olan bir transkripsiyon faktörüdür [115].

NF- κ B transkripsiyon faktör ailesi; hücre proliferasyonu ve farklılaşması, inflamasyon ve anjiyogenez gibi birçok biyolojik mekanizmada fonksiyon gören önemli bir düzenleyicisidir, RelA/p65, RelB, c-Rel, NF- κ B1/p50 (prekürsörü: p105) ve NF- κ B2/p52 (prekürsörü: p100) olmak üzere 5 üyeden oluşmaktadır.

Yapılan çalışmalarda NF- κ B bozukluklarının diyabet, astım, artrit, ateroskleroz, inme, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, viral enfeksiyonlar ve AIDS gibi birçok hastalıkla ilişkili olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda NF- κ B'nin inflamasyon ve kanser progresyonu ile ilişkili olduğuna yönelik kanıtlar da bulunmaktadır [116].

NF- κ B; viral proteinlere, inflamatuvar uyarılara, onkogenlere ve karsinojenlere cevap olarak aktivelebilmektedir. Aktif NF- κ B de hem proliferasyon, anjiyogenez ve metastazı düzenleyen genleri hem de apoptoz, immünite ve hematopoezi düzenleyen genlerin kontrolrolünü sağlamaktadır [117]. Ayrıca NF- κ B'nin sitokinlerin ekspresyonunu düzenleyen genlerden de sorumlu olduğu gösterilmiştir. Yapılan rat çalışmalarında, NF- κ B ailesi üyelerinden olan c-rel'in T lenfositlerde interlökin-2 ve interlökin-3; B lenfosit hücrelerinde interlökin-6; makrofajlarda TNF- α ve dendritik hücrelerde ise interlökin-12 üretiminden sorumlu olduğu tespit edilmiştir [118].

2.8 Çalışmada Kullanılan Diğer Etken Maddeler

2.8.1 Ksilazin

Ksilazin merkezi sinir sistemindeki α 2 adrenerjik reseptörleri uyarak norepinefrin salınımını engelleyerek sedasyon ve analjeziye neden olur. 1962 yılında Almanya'da antihipertansif ajan olarak üretilmiştir fakat günümüzde çoğunlukla sedasyon amacıyla kullanılmaktadır [119, 120].

Sempatik etkiyi azaltarak parasempatik etkiyi artırdığından; kalp hızında %50-60 oranında düşme, kalp debisi, kan basıncı ve solunum sayısında azalma meydana getirebilmektedir. Bunların dışında ksilazin kullanımına bağlı olarak bulantı, kusma, gastrointestinal sistemde atoni veya distansiyon, kalp bloğu gibi yan etkiler meydana gelebilmektedir [119].

Ksilazin, çökmeden ketamin solüsyonu ile karıştırılabilen, suda eriyen bir ilaçtır. Genellikle rat çalışmalarında ketamin ile karıştırılarak anestezi amacıyla intravenöz veya intramusküler olarak sık kullanılır [119].

2.8.2 Ketamin

Ketamin, santral sinir sisteminde spinal korttaki polisaptik refleksleri ve beynin belli bölgelerindeki eksitator nörotransmitterlerin etkilerini baskılayarak birçok etkinin oluşmasına neden olur. Fonksiyonel olarak talamusu (duyusal impulsları retiküler aktive edici sistemden serebral kortekse iletir) limbik korteksten (duyuların farkında olunması ile ilişkilidir) ayırır, böylece talamokortikal disosiasyonun oluşması neden olur. Beynin bazı nöronları baskılanmış olsa da diğerleri uyarılmış olur. Klinik olarak meydana gelen bu disosiyatif anestezi durumu; hastaların şuurlu gibi görünmesine fakat duyusal girdileri değerlendirememesine ve böylece buna cevap oluşturamamasına neden olur.

Ketamin, bir NMDA reseptör antagonisti ve fensiklidin analogu bir ajandır. Ketamin özellikle hipovolemi, hemorajik şok ve travma gibi sempatik stimülasyonun faydalı olduğu durumlarda intravenöz anestezi indüksiyonu amacıyla kullanılabilir. Ayrıca intravenöz yola erişiminin olmadığı çocuklarda veya koopere olmayan erişkinlerde intramusküler olarak genel anestezi indüksiyonu amacıyla da kullanılabilir. Ketaminin subterapotik dozlarında bile halusinojenik etki meydana gelebilir fakat klinik uygulamalarda hastaların çoğuna amnezi ve sedasyon amacıyla öncesinde küçük bir doz midazolam yapıldığından dolayı bu etkileri çok da gözükmemektedir [121].

Ketamin, klinik pratikte genellikle intravenöz veya intramusküler olarak uygulanmakla birlikte; oral, nazal, rektal, subkutan ve epidural olarak uygulanabilir. Dağılım yarı ömrü 10-15 dakikadır [121].

Ketamin karaciğerde metabolize olarak birçok metabolite dönüşür; norketamin anestezi aktivitesi olan ketamin metabolitidir. Ketamin karaciğer tarafından yüksek oranda alınarak biyotransformasyona uğradığından dolayı eliminasyon yarı ömrü kısadır (2 saat). Biyotransformasyon sonrası oluşan son ürünleri ise böbreklerden itrah edilir [121].

Ketamin çoğu anesteziklerden farklı olarak, özellikle hızlı bolus uygulamadan sonra, kalp hızı, arteriyel kan basıncı ve kalp debisini artırır. Bronkodilatör etkisi de olan bir ajandır. Serebral oksijen tüketimi, serebral kan akımı ve kafa içi basıncını artırır [121].

2.8.3 Ketamin ve ksilazin

Ketamin/ksilazin, deney hayvanlarında cerrahi anestezi amacıyla yaygın olarak kullanılan bir ilaç kombinasyondur. Ratlarda ketamin/ksilazin karışımı intraperitoneal olarak 40/10mg/kg'dan uygulandığında 2-4 dk içerisinde mükemmel bir sedasyon ve gevşeme sağlarken analjezi oluşturması açısından tutarsızdır, kas gevşemesine neden olmamaktadır. Kardiyopulmoner fonksiyonları artırdığı ve geniş bir emniyet marjı ile intramusküler olarak uygulanabiliyor olması bu ilaç kombinasyonunun başlıca avantajını oluştururken; kas tonusunu arttırması, salivasyonda artışa neden olması, titreme ve hatta tonik klonik konvülsiyonlara neden olması, etki açısından türler ve bireyler arasında geniş varyasyonlara neden olması da başlıca dezavantajını oluşturur [119].



3 GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanlarının Seçimi

Bu çalışmada Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen, ağırlıkları 250–300 gr arasında değişen 24 adet erişkin Wistar Albino tipi erkek rat kullanıldı. Deney hayvanları, adaptasyonlarının sağlanması amacıyla çalışma başlangıcına kadar 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ortamda, gruplar halinde normal oda sıcaklığında (22 C) bekletilmiş ve standart rat yemi ve su ile beslenmeleri sağlanmıştır. Cerrahi işlemden 12 saat önce katı gıda ile beslenmeleri kesilmiş, bu süre zarfında sadece su içmelerine izin verilmiştir. Deneklere yapılacak işlemler konusunda Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulu'nun 31.08.2023 tarih ve 2023/08 sayılı onayı alındı. Deneyler Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapıldı.

3.2 Anestezi Uygulaması

Çalışmaya dahil edilen bütün ratlara deneye başlangıç aşamasında, 40 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar; Pfizer, Inc., NY, USA) ve 10 mg/kg ksilazin (Rompun; Bayer AG, Leverkusen, Germany) kombinasyonunu olacak şekilde intraperitoneal enjeksiyon ile aynı anestezi kombinasyonu uygulandı. Ratlar cerrahi girişimin yapılacağı uygun dönem ortaya çıkıncaya kadar bekletildi. Sırtüstü pozisyonda hareketsiz kaldığı ve parmak kısıtırmaya yanıtsızlığın olduğu dönem, cerrahi girişim için uygun bir anestezi dönemi olarak kabul edildi.

3.3 Deney Grupları

Deney hayvanları, sağlıklı grup (HG), böbrek iskemi reperfüzyon oluşturulan grup (RIR) ,4 mg/kg sugammadexs uygulanan böbrek iskemi reperfüzyon oluşturulan grup (SIR4) ve 16 mg/kg sugammadexs uygulanan böbrek iskemi reperfüzyon oluşturulan grup (SIR16) olarak 4 gruba ayrıldı.

Grup 1 (sağlıklı grup (HG) n=6): Bu gruptaki ratlara 40 mg/kg ketamin hidroklorür ve 10 mg/kg ksilazin kombinasyonu ile intraperitoneal olarak uygulanan anestezi sonrası sadece batın sol lateralde 1-2 cm uzunluğunda laparotomi uygulandı. Daha sonra ratlar 6 saat anestezi altında bekletildikten sonra böbrek dokusu örneği alındı ve rat kuyruk venlerinden üre ve kreatinin çalışmak amacıyla kan örnekleri alındı, daha sonra yüksek doz anestezi uygulanarak (160 mg/kg ketamine hydrochloride ve 40 mg/kg xylazine) ratlar kurban edildi.

Grup 2 (böbrek I/R (RIR) n=6): Bu gruptaki ratlara 40 mg/kg ketamin hidroklorür ve 10 mg/kg ksilazin kombinasyonu ile intraperitoneal olarak uygulanan anestezi sonrası batın sol lateralde 1-2 cm uzunluğunda laparotomi uygulandı. Daha sonra total renal iskemi oluşturmak için renal artere ve böbreğe giden diğer damarlara klemp konularak iskeminin oluşması sağlandı. 1 saatlik iskemik periyottan sonra reperfüzyonun sağlanması amacıyla klemp kaldırıldı. Ratlar 6 saat anestezi altında bekletildikten sonra böbrek dokusu örneği alındı ve rat kuyruk venlerinden üre ve kreatinin çalışmak amacıyla kan örnekleri alındı, daha sonra yüksek doz anestezi uygulanarak (160 mg/kg ketamine hydrochloride ve 40 mg/kg xylazine) ratlar sakrifiye edildi.

Grup 3 (4 mg/kg sugammadex+böbrek I/R(SIR4) n=6): Bu gruptaki ratlara 40 mg/kg ketamin hidroklorür ve 10 mg/kg ksilazin kombinasyonu ile intraperitoneal olarak uygulanan anestezi sonrası batın sol lateralde 1-2 cm uzunluğunda laparotomi uygulandı. Daha sonra total renal iskemi oluşturmak için renal artere ve böbreğe giden diğer damarlara klemp konularak iskeminin oluşması sağlandı. 1 saatlik iskemik periyottan sonra reperfüzyonun sağlanması amacıyla klemp kaldırıldı. Klempin kaldırılmasıyla eş zamanlı olarak 4mg/kg'dan intraperitoneal olarak sugammadex uygulandı. Ratlar 6 saat anestezi altında bekletildikten sonra böbrek dokusu örneği alındı ve rat kuyruk venlerinden üre ve kreatinin çalışmak amacıyla kan örnekleri alındı, daha sonra yüksek doz anestezi uygulanarak (160 mg/kg ketamine hydrochloride ve 40 mg/kg xylazine) ratlar sakrifiye edildi.

Grup 4 (16 mg/kg sugammadex+böbrek I/R(SIR16) n=6): Bu gruptaki ratlara 40 mg/kg ketamin hidroklorür ve 10 mg/kg ksilazin kombinasyonu ile intraperitoneal olarak uygulanan anestezi sonrası batın sol lateralde 1-2 cm uzunluğunda laparotomi uygulandı. Daha sonra total renal iskemi oluşturmak için renal artere ve böbreğe giden diğer damarlara klemp konularak iskeminin oluşması sağlandı. 1 saatlik iskemik periyottan sonra reperfüzyonun sağlanması amacıyla klemp kaldırıldı. Klempin kaldırılmasıyla eş zamanlı olarak 16mg/kg'dan intraperitoneal olarak sugammadex uygulandı. Ratlar 6 saat anestezi altında bekletildikten sonra böbrek dokusu örneği alındı ve rat kuyruk venlerinden üre-kreatinin çalışmak amacıyla kan örnekleri alındı, daha sonra yüksek doz anestezi uygulanarak (160 mg/kg ketamine hydrochloride ve 40 mg/kg xylazine) ratlar sakrifiye edildi.

3.4 Deneyin Yapılışı ve Örneklerin Alınması

Bu çalışmada, 24 adet ağırlıkları 250–300 gr arasında değişen Wistar Albino cinsi erkek rat kullanıldı. Hayvanlar, rastgele olarak ve her grupta 6 rat olacak şekilde 4 eşit gruba ayrıldı. Her

gruptaki ratlar anestezi indüksiyonu yapıldıktan sonra cerrahi işlem için hazırlandı, supin pozisyonda cerrahi düzeneğe sabitlendi, batin sol lateral bölgesi tüylerden arındırılarak batikonla silindi. Yaklaşık 1-2 cm'lik insizyon sonrası batin organları ile böbrek görünür hale geldi ve sol renal hiler bölge diseke edilerek, iskemi oluşturulan gruplarda atravmatik vasküler klemp ile renal arter ve böbreğe giden diğer damarsal yapılar sıkıştırılarak 1 saat iskemi oluşturuldu. Böbrek iskemisi renal arterde pulsasyon olmaması ve böbrek dokusunun soluklaşması ile doğrulandı. İskemi uygulanan gruplara 1 saatlik iskemi sonrası klemp kaldırılarak 6 saatlik reperfüzyon sağlandı. Sugammadeks uygulanan gruplara klempin kaldırılmasıyla eş zamanlı olarak intraperitoneal olarak ilaç uygulandı. Tüm gruplar 6 saat boyunca izlendi. Gereken ratlarda tekrar anestezi uygulandı. Bekleme süreleri boyunca batin ıslak steril tamponlar ile kapatıldı.

6 saat bekleme süresi sonrasında tüm ratlara sol nefrektomi yapıldı. Böbrek dokusu longitudinal olarak 2 eşit parçaya ayrıldı. Histopatolojik inceleme planlanan böbrek dokusu %10'luk formaldehit solüsyonuna konuldu. MDA, tGSH, NF-kB, IL-1 β ve TNF- α düzeylerinin tespiti planlanan böbrek dokusu ise herhangi bir solüsyona konulmadan steril saklanma kaplara alındı. Daha sonra kuyruk venlerinden kan alındı. Deney sonunda hayvanlar yüksek doz anestezi uygulanarak sakrifiye edildi.

İşlem sonunda biyokimyasal analizler için kuyruk veninden alınan kan örnekleri santrifüj edilerek serumlarından ayrıldı ve bu serum örnekleri biyokimya laboratuvarında -80 OC'de muhafaza edildi. Aynı şekilde böbrek dokusunda MDA, tGSH, NF-kB, IL-1 β ve TNF- α düzeylerinin tespiti için alınan böbrek doku örnekleri de biyokimyasal analizler için -80 OC'de muhafaza edildi. Histopatolojik inceleme için alınan böbrek doku örnekleri de %10 formalin solüsyonu içerisinde teslim edildi.

3.5 Histolojik Değerlendirme

Histopatolojik inceleme Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD Laboratuvarında yapıldı. Sakrifikasyonun hemen sonrasında kapsül tarafından fiksatif perfüzyonunun engellenmemesi açısından iki parçaya ayrılan böbrek dokuları %10 tamponlu formalin içerisinde bir hafta inkübe edildikten sonra rutin histolojik takibe alındı. Takip sonrası parafine gömülen dokulardan kızaklı mikrotom (Leica, SM 2010 R) ile 4-5 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler ısı ve ksilol ile deparafinize edildikten sonra, dereceli alkollerle rehidrate edildi. Rutin hematoksilin-eozin boyama

prosedürü sonrası, her grubun her bir katılımcısına ait kesitlerden en az 5 rastgele alanda histopatolojik skorlama gerçekleştirildi. Skorlamada 0 hiç yok, 1 nadir/hafif, 2 orta ve 3 de şiddetli olarak belirlendi.

3.6 Biyokimyasal Değerlendirme

3.6.1 Örnek Hazırlama

Her dokudan 100 mg tartılarak alındı ve üzerine 2 mL buz soğukluğunda fosfat tamponu (50 mM, pH 7.4) eklenerek homojenizatör yardımıyla buz üzerinde parçalandı. Daha sonra 4 °C'de 15 dakika boyunca 1.200 x g'de santrifüj edildi. Süpernatandan NF-κB, IL-1β, tGSH, TNF-α ve MDA ölçümleri yapıldı. Süpernatandaki protein konsantrasyonu da Bradford MM yöntemi kullanılarak belirlendi ve tüm doku değerleri g veya mg proteine bölündü. Tüm spektrofotometrik analizler için bir mikrolaka okuyucu (Thermo Fisher Scientific-Multiskan Sky Microplate Spectrophotometer) kullanılarak ölçümler gerçekleştirildi.

3.6.2 NF-κB, IL-1β, tGSH, TNF-α ve MDA Analiz

Rata özgü olarak enzim bağlantılı immünosorbent (ELISA) kitleri kullanılarak NF-κB, MDA, tGSH, TNF-α ve IL-1β seviyelerini belirlemek için doku homojenat örnekleri kullanıldı. Thermo Scientific / Multiskan: microplate reader spectrophotometre marka cihaz ile üreticinin talimatlarına uygun olarak, rat NF-κB ELISA immünolojik tahlil kitleri (Kat No: SEB824Ra, USCN), IL-1β ELISA kitleri (Kat No: SEA563Ra, USCN), TNF-α ELISA immünolojik test kitleri (Kat No: SEA133Ra, USCN), tGSH ELISA immünolojik test kitleri (Kat No: CEA294Ge, USCN) ve MDA ELISA immünolojik test kitleri (Kat No: CEA597Ge, USCN) kullanılarak ölçümler yapıldı. Mikrolaka kuyuları, rat NF-κB, MDA, tGSH, TNF-α veya IL-1β'ya özgü bir monoklonal antikorla kaplandı. Pipetle alınan doku örnekleri homojenatı, biyotinlenmiş monoklonal antikor ve streptavidin-HRP kuyucuklara eklendi ve 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. Yıkamadan sonra, renk üretmek üzere bağlı enzimle etkileşime giren A ve B kromojen reaktifleri dahil edildi. Plakalar daha sonra 37°C'de 10 dakika süreyle inkübe edildi. Son olarak durdurucu solüsyon eklenerek örneklerin absorbanları 450 nm'de ölçüldü.

3.6.3 Üre ve Kreatinin Analizi

Alınan venöz kan örnekleri antikoagülan kullanılmadan tüplere yerleştirildi. 30 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra 10 dakika boyunca 1.200 x g'de santrifüj edilerek değerlendirmeye kadar -80 °C'de muhafaza edildi. Böbrek fonksiyon testleri için üre ve kreatinin değerleri, bir Cobas 8000 otoanalizörü (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim,

Almanya) ve ticari olarak temin edilebilen kitler (Roche Diagnostics) kullanılarak spektrofotometrik olarak değerlendirildi.

3.7 İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin analizi IBM SPSS 25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programında yapılmıştır. Normal dağılım varsayımı Shapiro Wilks testi ile değerlendirilirken, varyansların homojenliği Levene testi ile değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler dağılımı normal olan değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma, dağılımı normal olmayan değişkenler için ortanca (min – maks), olarak gösterilmiştir.

Dört grup ortalamalar yönünden farkın önemliliği Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA) testi ya da Welch Anova ile, ortanca değerler yönünden farkın önemliliği Kruskal Wallis testi ile değerlendirilmiştir. İkili karşılaştırma testleri ise sırasıyla Anova için Tukey HSD ya da Games Howell testten uygun olanla, Kruskal Wallis testi için ise, Dunn Bonferonni Testi ile yapılmıştır. Biyokimyasal parametreler ve histopatolojik parametreler ise kutu çizgi grafiği ile görselleştirilmiştir.

$p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4 BULGULAR

4.1 Biyokimyasal Bulgular

Tablo 4.1. Gruplara Göre Biyokimyasal Bulgular

	GRUPLAR				P (Gruplar arası)
	HG	RIR	SIR4	SIR16	
IL 1B (pg/mg protein)	84.96 ± 13.74	133.74 ± 86.15	111.59 ± 37.75	101.33 ± 12.99	0.377
NF-KB (ng/mg protein)	63.88 ± 31.04	94.95 ± 42.03	82.51 ± 35.27	67.35 ± 12.82	0.337
TNF-a (pg/mg protein)	655.05 ± 250.46	1106.44 ± 644.91	1008.36 ± 388.68	761.99 ± 161.58	0.218
MDA (ng/mg protein)	589.15 ± 167.92	838.86 ± 476.34	730.84 ± 173.27	635.73 ± 375.30	0.570
GSH (µg/mg protein)	145.91 ± 39.34	69.02 ± 29.17	86.38 ± 41.30	113.18 ± 10.82	0.003*
Üre (mg/dL)	39.83 ± 2.92	119.66 ± 27.96	82.5 ± 11.36	54.83 ± 28.02	0.000*
Kreatinin (mg/dL)	0.46 ± 0.01	0.76 ± 0.9	0.59 ± 0.6	0.55 ± 0.08	0.000*

*: p<0,05 olan değerleri göstermektedir.

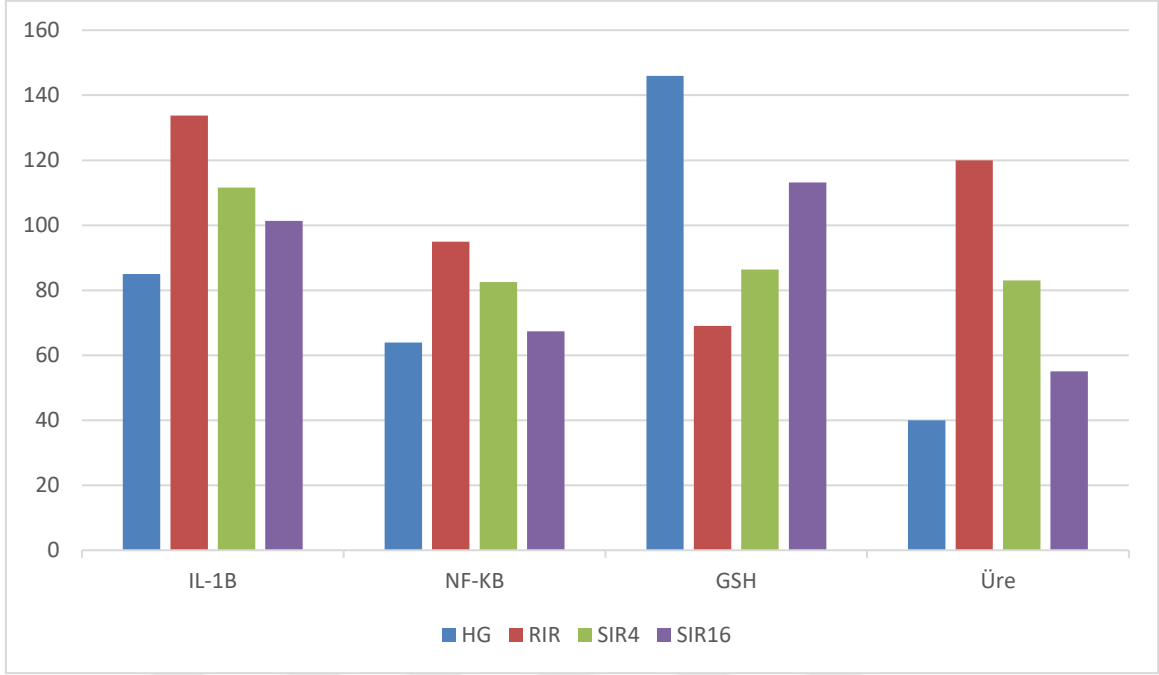
Tablo 4.2. tGSH, Üre ve Kreatinin Gruplar Arası Karşılaştırmaları

	GRUPLARIN BİRBİRLERİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI		P DEĞERLERİ
tGSH (µg/mg protein)	HG	RIR	0.003*
		SIR4	0.023*
		SIR16	0.328
	RIR	HG	0.003*
		SIR4	0.791
		SIR16	0.119
	SIR4	HG	0.023*
		RIR	0.791
		SIR16	0.497
	SIR16	HG	0.328
		RIR	0.119
		SIR4	0.497
Üre (mg/dL)	HG	RIR	0.000*
		SIR4	0.009*
		SIR16	0.599
	RIR	HG	0.000*
		SIR4	0.026*
		SIR16	0.000*
	SIR4	HG	0.009*
		RIR	0.026*
		SIR16	0.127
	SIR16	HG	0.599
		RIR	0.000*
		SIR4	0.127
Kreatinin (mg/dL)	HG	RIR	0.002*
		SIR4	0.008*
		SIR16	0.141
	RIR	HG	0.002*
		SIR4	0.027*
		SIR16	0.011*
	SIR4	HG	0.008*
		RIR	0.027*
		SIR16	0.726
	SIR16	HG	0.141
		RIR	0.011*
		SIR4	0.726

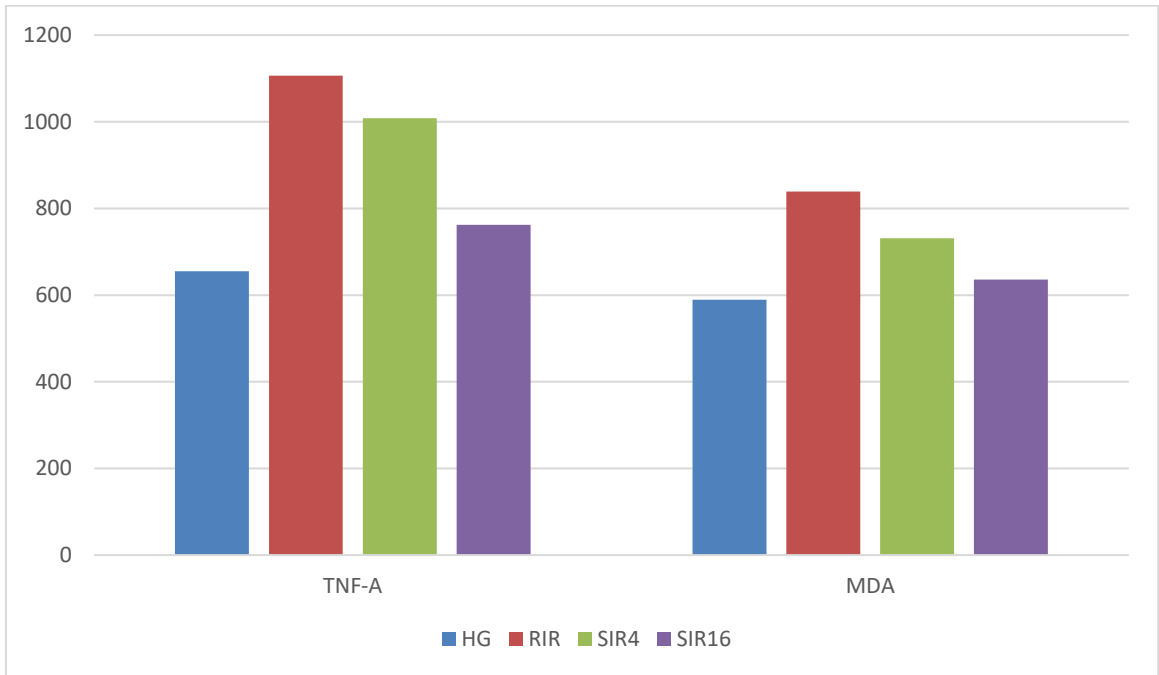
HG grubu ile karşılaştırıldığında İL-1 β , TNF- α , NF-k β ve MDA değerleri istatistiksel olarak anlamlı olmasa da RIR, SIR4 ve SIR16 gruplarında daha yüksek bulunmuştur. Bezer şekilde RIR grubundaki İL-1 β , TNF- α , NF-k β ve MDA değerleri SIR4 ve SIR16 gruplarına göre; SIR4 grubundaki İL-1 β , TNF- α , NF-k β ve MDA değerleri ise SIR16 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek bulunmuştur. Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda İL-1 β , TNF- α , NF-k β ve MDA değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

HG grubu ile karşılaştırıldığında tGSH değerleri RIR, SIR4 ve SIR16 gruplarında daha düşük bulunmuştur. SIR4 grubundaki tGSH değerleri RIR grubuna göre yüksek, SIR16 grubuna göre ise düşük bulunmuştur. Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda RIR ve SIR4 grubundaki tGSH değeri HG grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur(P<0.05). İstatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da SIR4 grubundaki tGSH değeri RIR grubuna göre daha yüksek, SIR16 grubuna göre ise daha düşük bulunmuştur. Benzer şekilde SIR16 grubundaki tGSH değeri ile HG, RIR ve SIR4 grubundaki tGSH değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir.

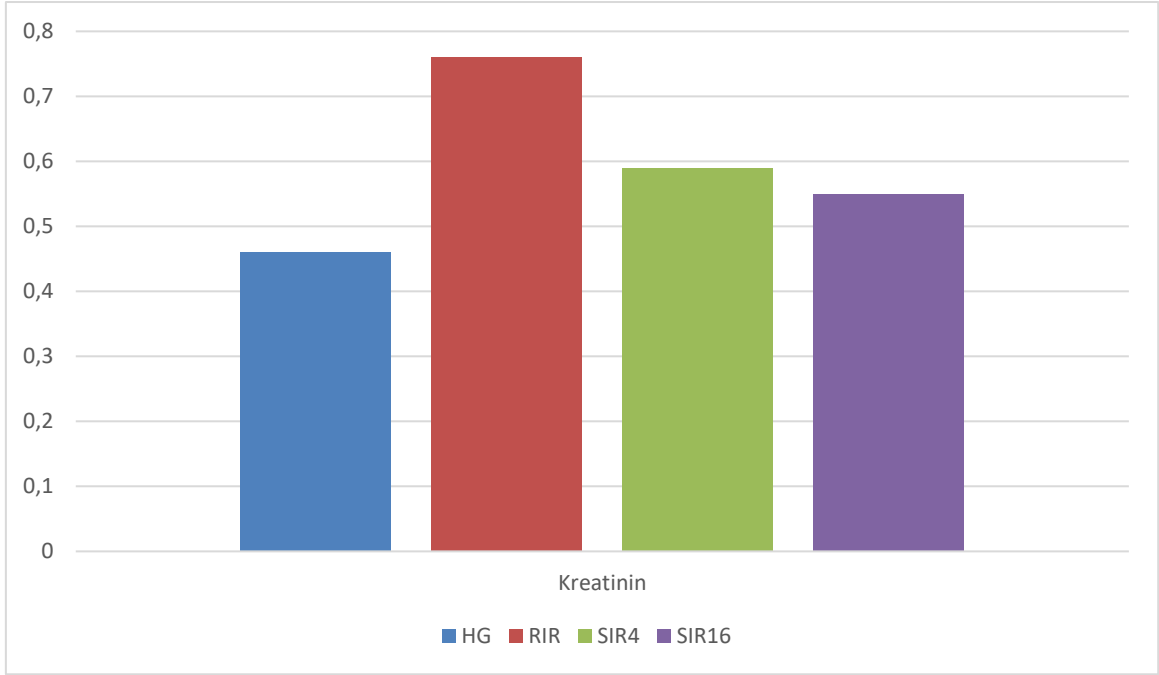
HG grubu ile karşılaştırıldığında üre ve kreatinin değerleri RIR, SIR4 ve SIR16 gruplarında daha yüksek bulunmuştur. SIR4 grubundaki üre ve kreatinin değerleri RIR grubuna göre düşük, SIR16 grubuna göre ise yüksek bulunmuştur. Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda RIR ve SIR4 grubundaki üre ve kreatinin değerleri HG grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur(P<0.05). SIR16 grubundaki üre ve kreatinin değeri HG grubuna göre yüksek olsa da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. SIR4 ve SIR16 grubundaki üre ve kreatinin değerleri RIR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur(P<0.05). SIR4 ile SIR16 grupları arasındaki üre ve kreatinin değerleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.



Şekil 4.1. HG, RIR, SIR4 ve SIR16 Gruplarında İL-1 β , NF- κ B, GSH ve Üre düzeyleri. HG, Sağlıklı Grup (n = 6); RIR, Böbrek İskemi/Reperfüzyon Grubu (n = 6); SIR4, 4 mg/kg Sugammadex+ İskemi/Reperfüzyon Grubu (n = 6); SIR16, 16 mg/kg Sugammadex+ İskemi/Reperfüzyon Grubu (n = 6)



Şekil 4.2. HG, RIR, SIR4 ve SIR16 Gruplarında TNF-a ve MDA düzeyleri.



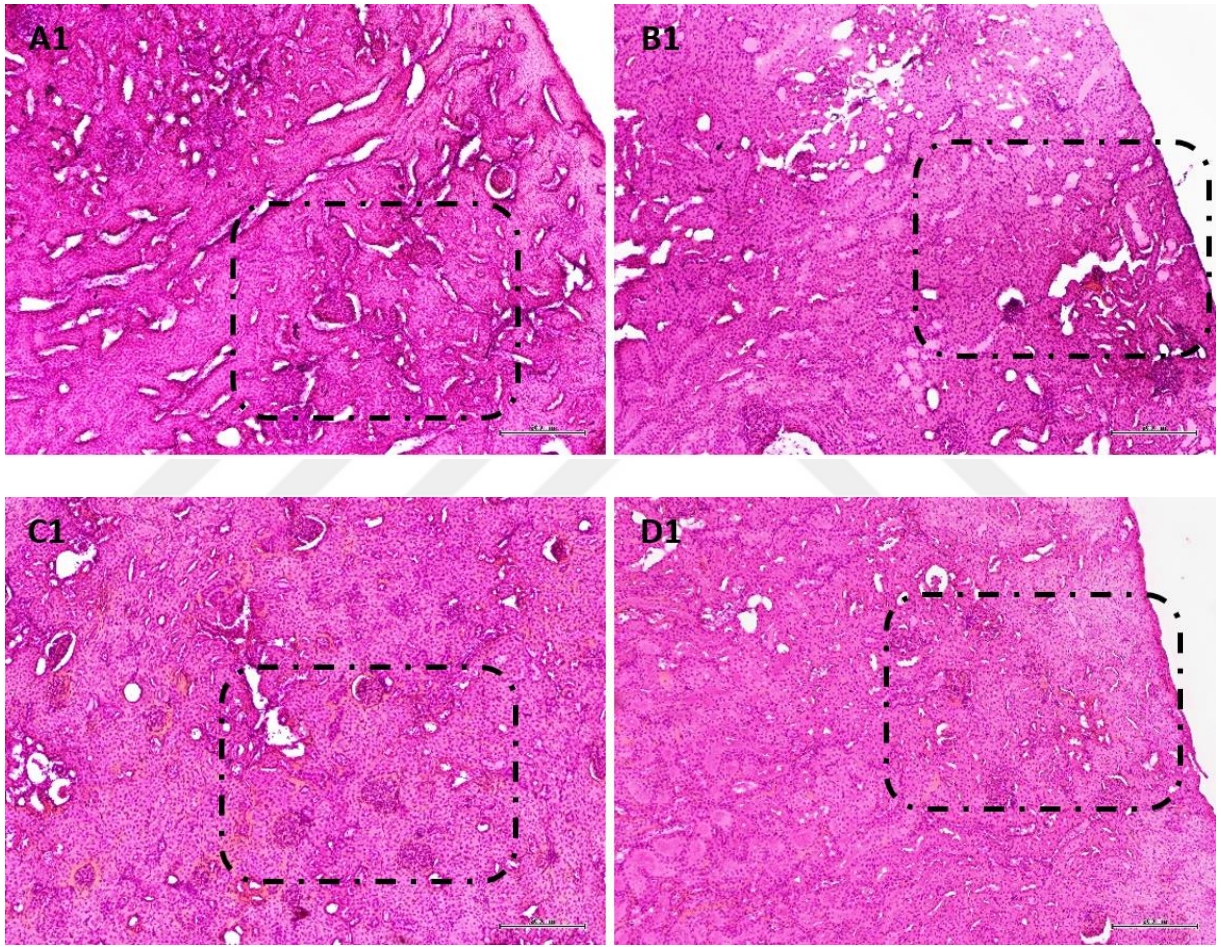
Şekil 4.3. HG, RIR, SIR4 ve SIR16 Gruplarında Kreatinin düzeyleri.

4.2 Histopatolojik Bulgular

Tüm gruplardan alınan böbrek doku örneklerinin hematoksilen-eozin boyalı histolojik kesitleri; interstisyel bölgedeki fokal mononükleer hücre infiltrasyon alanları, interstisyel bölgede konjesyon alanları, tübüler epitel hücrelerinde dejeneratif değişiklikler ile fokal nekroz alanları ve hemoraji ile hiperemi varlığı bakımından değerlendirilmesi yapıldı ve skorlandı.

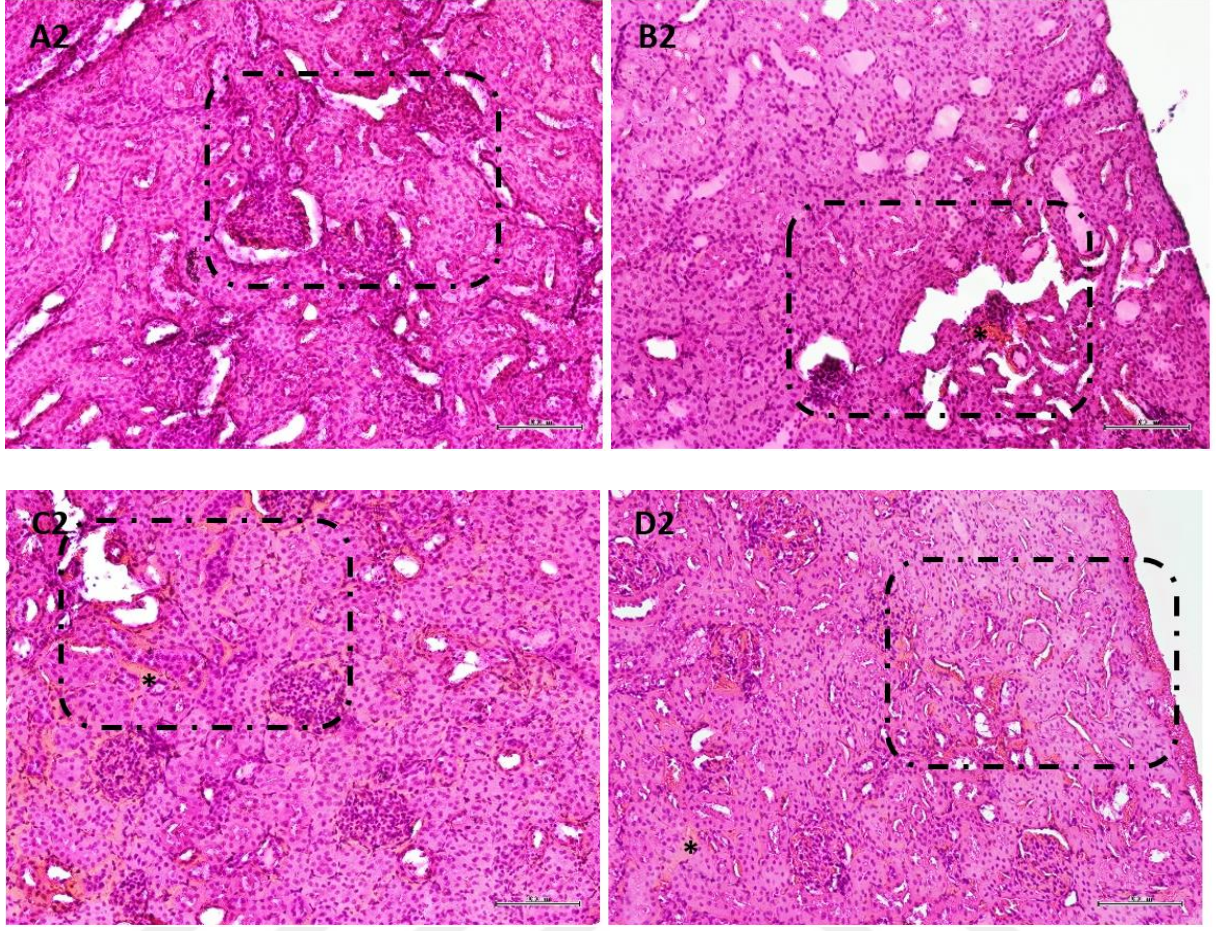
Gruplara ait böbrek preparatlarına ait mikrografların histopatolojik incelemesinde HG grubuna ait örneklerde nadir olarak hemorajik alanlara rastlanmasına rağmen genel olarak normal histolojik yapılar izlenmiştir (Şekil 4.4- A1). RIR grubunda yaygın olmasa da görüldüğü bölgede kümelenmiş halde hemorajik alanlar neredeyse tüm kesitlerde görülmüştür. Bu gruba ait hemorajik alanlarda yoğun boyanma paternleri izlenmiştir. Yine RIR grubunda özellikle glomerüllerde ve ikincil olarak da tübüler yapılarda nekroz alanları mevcuttu (Şekil 4.6- B3). SIR4 ve SIR16 grupları RIR grubuyla karşılaştırınca tüm histopatolojik kriterlerde daha normal histolojik görünüme sahiptiler. Bunun yanında bu iki grup da HG grubuna oranla daha patolojik görünümdeydiler. SIR4 ve SIR16 gruplarının

kendi aralarında karşılaştırılmasında, SIR16 grubu özellikle nekrotik alanlar açısından SIR4 grubuna daha düşük skora sahipti. Özellikle RIR grubunda görülen ve SIR4 grubunda da izlenen konjesyon alanları SIR16 grubunda gözle görülür şekilde azalmıştı. Tüm bu sonuçlar açısından yapılan değerlendirmede artan dozlarda sudamadeks uygulamasının iskemi reperfüzyon hasarı açısından koruyucu nitelikte olduğu düşünülebilir.

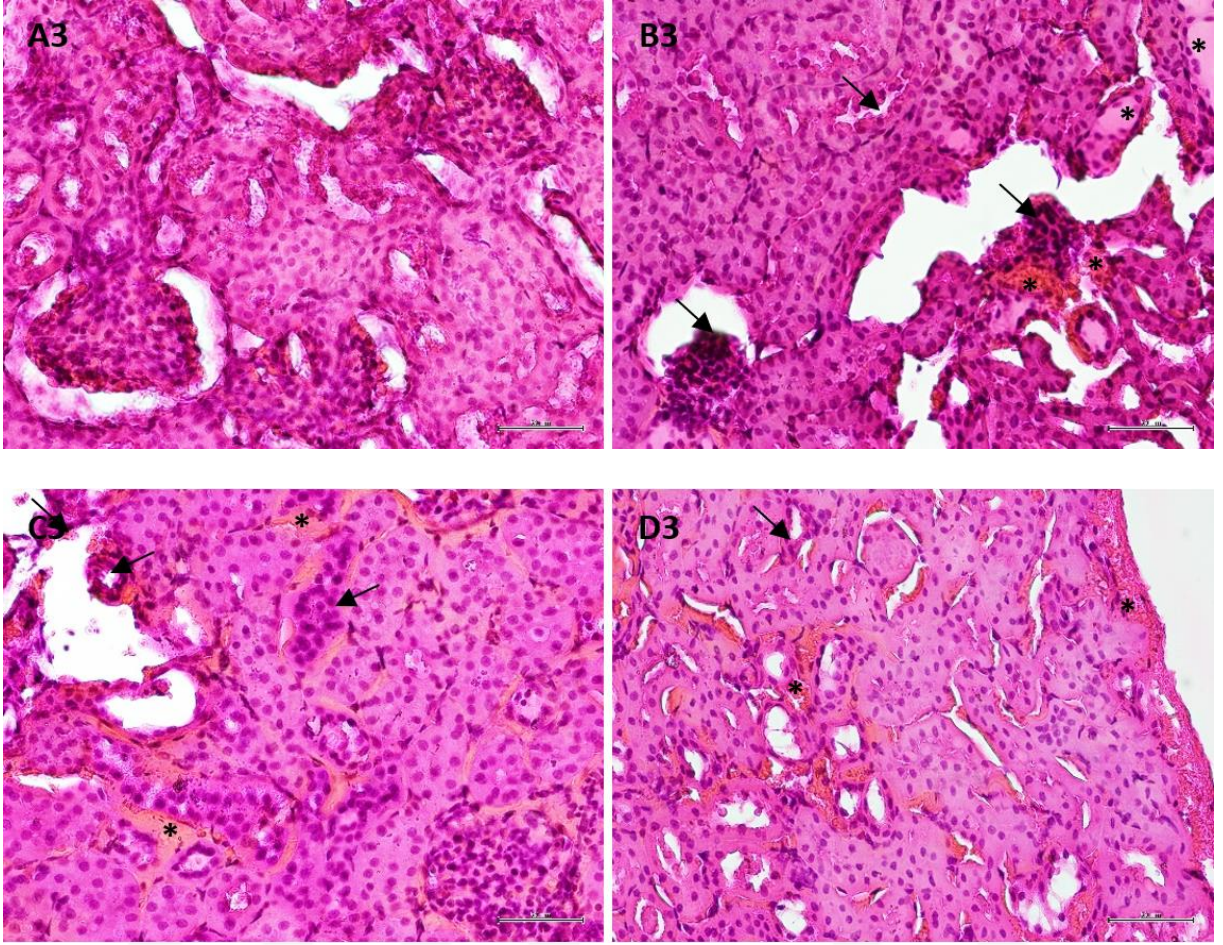


Şekil 4.4. HG, RIR, SIR4 ve SIR16 Gruplarının 100X Büyütmedeki Mikrograftları

A1'deki mikroskop görüntüsü HG, B1'deki mikroskop görüntüsü RIR, C1'deki mikroskop görüntüsü SIR4, D1'deki mikroskop görüntüsü de SIR16 gruplarına aittir. Mikrografların üzerinde bulunan kesikli çizgiyle sınırlı alanlar şekil 4.5'te bulunan resimdeki alanı ifade etmektedir.



Şekil 4.5. HG, RIR, SIR4 ve SIR16 Gruplarının 200X Büyütmedeki Mikrograftları
A2'deki mikroskop görüntüsü HG, B2'deki mikroskop görüntüsü RIR, C2'deki mikroskop görüntüsü SIR4, D2'deki mikroskop görüntüsü de SIR16 gruplarına aittir. Mikrografların üzerinde bulunan kesikli çizgiyle sınırlı alanlar şekil 4.6'da bulunan resimdeki alanı ifade etmektedir. Asteriks ile hemoraji ve hiperemi alanları gösterilmiştir.



Şekil 4.6. HG, RIR, SIR4 ve SIR16 Gruplarının 400X Büyütmedeki Mikrograftları
A3'teki mikroskop görüntüsü HG, B3'teki mikroskop görüntüsü RIR, C3'teki mikroskop görüntüsü SIR4, D3'teki mikroskop görüntüsü de SIR16 gruplarına aittir. Asteriks ile hemoraji ve hiperemi, ince ok ile glomerüler ve tübüler nekroz alanları gösterilmiştir.

Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda; interstisyel bölgedeki fokal mononükleer hücre infiltrasyon alanları açısından HG ile RIR ve RIR ile SIR16 grupları arasında, İnterstisyel bölgede konjesyon alanları açısından HG ile RIR grubu arasında, tübüler epitel hücrelerinde dejeneratif değişiklikler ve fokal nekroz alanları açısından HG ile RIR grubu arasında, hemoraji ve hiperemi varlığı açısından ise HG ile RIR ve RIR ile SIR16 grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$). Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda diğer gruplar arasında da fark olsa da istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır.

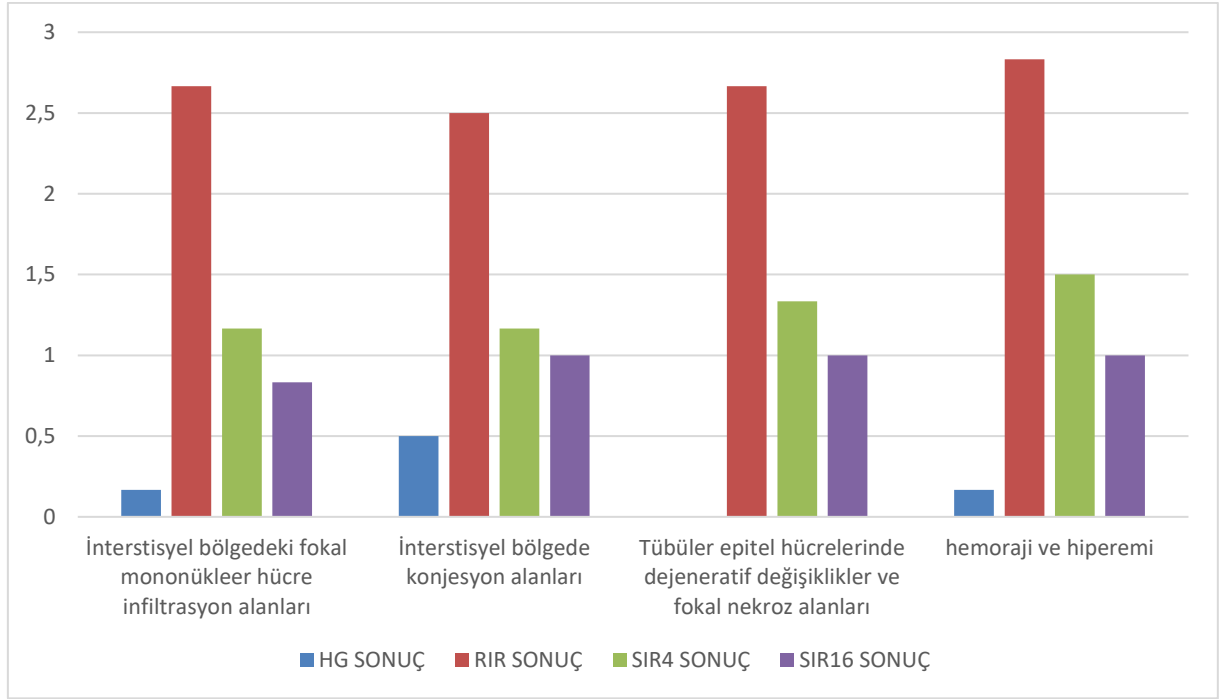
Tablo 4.3. Gruplara Göre Histopatolojik Bulgular

	GRUPLAR				P(gruplar arası)
	HG	RIR	SIR4	SIR16	
İnterstisyel bölgedeki fokal mononükleer hücre infiltrasyon alanları	0 (0-1)	3 (2-3)	1 (0-2)	1 (0-2)	0.001*
İnterstisyel bölgede konjesyon alanları	0.5 (0-1)	2.5 (2-3)	1 (0-2)	1 (0-2)	0.005*
Tübüler epitel hücrelerinde dejeneratif değişiklikler ve fokal nekroz alanları	0 (0-0)	3 (2-3)	1 (1-2)	1 (0-2)	0.000*
Hemoraji ve hiperemi	0 (0-1)	3 (2-3)	1.5 (1-2)	1 (0-2)	0.000*

*: $p < 0,05$ olan değerleri göstermektedir.

Tablo 4.4. Histopatolojik Bulguların Gruplar Arasındaki Karşılaştırmaları

	KARŞILAŞTIRILAN GRUPLAR	P
İnterstisyel bölgedeki fokal mononükleer hücre infiltrasyon alanları	HG-RIR	0.001*
	HG-SIR4	0.449
	HG-SIR16	1.000
	RIR-SIR4	0.214
	RIR-SIR16	0.045*
	SIR4-SIR16	1.000
İnterstisyel bölgede konjesyon alanları	HG-RIR	0.003*
	HG-SIR4	1.000
	HG-SIR16	1.000
	RIR-SIR4	0.162
	RIR-SIR16	0.073
	SIR4-SIR16	1.000
Tübüler epitel hücrelerinde dejeneratif değişiklikler ve fokal nekroz alanları	HG-RIR	0.000*
	HG-SIR4	0.083
	HG-SIR16	0.372
	RIR-SIR4	0.372
	RIR-SIR16	0.083
	SIR4-SIR16	1.000
Hemoraji ve hiperemi	HG-RIR	0.000*
	HG-SIR4	0.127
	HG-SIR16	0.866
	RIR-SIR4	0.358
	RIR-SIR16	0.038*
	SIR4-SIR16	1.000



Şekil 4.7. HG, RIR, SIR4 ve SIR16 Gruplarının Histopatolojik Skor Sonuçları.

HG, Sağlıklı Grup (n = 6); RIR, Böbrek İskemi/Reperfüzyon Grubu (n = 6); SIR4, 4 mg/kg Sugammadex+ İskemi/Reperfüzyon Grubu (n = 6); SIR16, 16 mg/kg Sugammadex+ İskemi/Reperfüzyon Grubu (n = 6)

5 TARTIŞMA

İskemi, özellikle arteryal sistemdeki bir patolojiye bağlı olarak organların yeterli ölçüde kanlanmasının sağlanamadığı klinik durumdur. Hipoksiye bağlı hücrelerin enerji yolaklarını yeterince çalıştıramaması ve biriken metabolitlerin uzaklaştırılamaması sebebiyle öncelikle geri dönüşlü daha sonra kalıcı doku hasarı meydana gelir [122]. İskemi reperfüzyon hasarı ise, iskemik durum sonrası kanlanmanın yeniden sağlanmasından sonra iskeminin doku üzerindeki olumsuz etkilerin paradoksal olarak düzelmek yerine daha da arttığı klinik bir durumdur. Etki mekanizması halen net olarak bilinmemekle beraber iskemi reperfüzyon hasarının re-oksijenasyona bağlı hücre içi artmış kalsiyum konsantrasyonu, artmış sistemik inflamatuvar yanıt, mitokondrial/lizozomal permeabilitede artış, endotelyal disfonksiyon gibi sebeplerden kaynaklandığı düşünülmektedir [123].

Jordan ve ark. nötrofillerin miyokard iskemi reperfüzyon hasarındaki rolüne baktıkları, Collard ve ark. iskemi reperfüzyon hasarının patofizyolojisini araştırdıkları çalışmalarında; oksidatif stres, nötrofil ve lökosit aktivasyonun birlikte iskemi reperfüzyon hasarının patogenezinde rol oynadığını göstermiştir [124, 125]. Bu mekanizmaların dışında IL-6 ve TNF- α gibi çeşitli endojen mediyatörlerin de iskemi reperfüzyon hasarının patogenezinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir [126]. Polimorfonükleer lökositler (PMNL'ler), reperfüzyon hasarının patofizyolojisinde önemli rol oynar; PMNL'ler azurofilik granüllerinde oksidan etkileri olan NADPH oksidaz, elastaz ve miyeloperoksidaz enzimlerini bulundurlar [68]. Aktif PMNL'lerde ksantin oksidazın artmasına bağlı olarak serbest oksijen radikal salınımı sonucu hasar meydana gelir. Bundan da anlaşıldığı üzere iskemi reperfüzyon hasarındaki temel mekanizmalardan birisinin inflamasyondaki artış, bir diğzerinin de oksidatif strese bağlı oksidan-antioksidan dengenin bozulmasıdır.

İskemi reperfüzyon hasarı iskemik kalan dokunun, vücudun kendi fibrinolitik yolları ile yeniden kanlanmasını sağlamasıyla gerçekleşebileceği gibi, embolektomi, aterosklerotik arterlere balon anjioplasti ya da stent gibi tedaviler sonrasında da meydana gelebilmektedir. Ayrıca vasküler cerrahiler sırasında veya kansız cerrahi alan oluşturmak amacıyla diğer cerrahi işlemlerde konulan klemp sonrası iskemik kalan dokuya, cerrahi işlemin sonunda klempin kaldırılması ile tekrar kan akımı sağlanması ile de olabilmektedir. Cerrahi işlem sonrası klempin kaldırılmasıyla hem iskemik kalan dokuda hem de sistemik pro-inflamatuvar mediatörler aracılığıyla uzak organlarda hasar meydana gelebilmektedir[127].

Çalışmamızda iskemi oluşturularak yapılan renal cerrahide sıkça karşılaştığımız iskemi reperfüzyon hasarını azaltmak amacıyla, günümüz anestezi uygulamalarında, steroid yapılı nondepolarizan nöromusküler kas gevşeticilerin etkisinin geri döndürülmesinde de sıkça kullanılan bir farmakolojik ajan olan sugammadexin farklı dozlarının böbrek iskemi reperfüzyon hasarına etkisini histopatolojik ve biyokimyasal parametrelerle inceledik. İnflamatuar yanıtta artış veya oksidatif strese bağlı oksidan-antioksidan dengenin bozulması iskemi reperfüzyon hasarının meydana gelmesinde temel patofizyolojik mekanizma olduklarından, çalışmamızda böbrek dokusunda MDA, tGSH, IL-1 β , TNF- α ve NF- κ B gibi oksidan-antioksidan ve inflammatuar parametreler üzerinde çalıştık. Araştırmamızda tam renal iskemi oluşturmak için renal artere bir saat süreyle klempe yerleştirdik ve ardından altı saatlik reperfüzyon sağladık. Biyokimyasal parametreler olarak böbrek dokusunda MDA, tGSH, IL-1 β , TNF- α ve NF- κ B düzeyleri ile kanda üre ve kreatinin değerlerine baktık. Histopatolojik parametreler olarak da böbrek dokusunda interstisyel bölgedeki fokal mononükleer hücre infiltrasyon alanları, interstisyel bölgedeki konjesyon alanları, tübüler epitel hücrelerindeki dejeneratif değişiklikler/fokal nekroz alanları ve hemoraji/hiperemi varlığına bakarak değerlendirmeler yaptık. Çalıştığımız biyokimyasal parametrelerde gruplar arasında yaptığımız karşılaştırmalarda; HG grubu ile karşılaştırıldığında IL-1 β , TNF- α , NF- κ B ve MDA düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı bulmasak da RIR, SIR4 ve SIR16 gruplarında daha yüksek bulduk. Benzer şekilde SIR16 grubundaki IL-1 β , TNF- α , NF- κ B ve MDA düzeylerini de RIR ve SIR4 grubundaki IL-1 β , TNF- α , NF- κ B ve MDA düzeylerine göre daha düşük bulduk. HG grubu ile karşılaştırıldığında tGSH düzeylerini RIR, SIR4 ve SIR16 gruplarında daha düşük bulduk. SIR16 grubundaki tGSH düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı olmasa da HG grubuna göre düşük, RIR ve SIR4 grubuna göre ise yüksek bulduk. RIR ve SIR4 grubundaki tGSH düzeylerini ise HG grubundaki tGSH düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulduk (P<0.05). HG grubu ile karşılaştırıldığında üre ve kreatinin değerlerini RIR, SIR4 ve SIR16 gruplarında daha yüksek bulduk. SIR16 grubundaki üre ve kreatinin değerlerini ise RIR ve SIR4 gruplarına göre daha düşük bulduk. RIR ve SIR4 grubundaki üre ve kreatinin değerlerini HG grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek; SIR4 ve SIR16 grubundaki üre ve kreatinin değerlerini de RIR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulduk. Yüksek doz sugammadex uygulanan grupta; IL-1 β , TNF- α , NF- κ B ve MDA düzeylerindeki artış ile üre ve kreatinin değerindeki artışın daha düşük olduğunu, tGSH düzeylerinin sağlıklı gruptaki tGSH düzeylerine daha yakın olduğunu tespit ettik. Benzer şekilde yüksek doz

sugammadeks uygulanan grupta histopatolojik olarak böbrek hasarının da daha az olduğunu saptadık.

Kip ve ark. diyabetik ratlarda 96 mg/kg sugammadeks uygulamasının yapıldığı grupta plazma MDA düzeylerinde diğer gruplara göre anlamlı yükselme olduğunu gösterdikleri bir çalışma yapmışlar. Bu yükselmenin inflamatuvar süreci tetiklemede ve renal sistemin hasarlanmasında etkisinin olduğunu düşünmüşler [128]. Doğrul ve ark. 96 mg/kg sugammadeks ile yaptıkları başka bir çalışmada da gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında; MDA enzim aktivitesini üretir obstrüksiyonu oluşturulan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlar [129]. Koç ve ark. yapmış oldukları sugammadeksin (4 mg/kg) gastrik iskemi reperfüzyon hasarına etkisinin incelendiği başka bir çalışmada da sugammadeksin MDA düzeylerindeki artışı anlamlı derecede inhibe ettiği, tGSH düzeylerindeki azalmayı anlamlı düzeyde baskıladığını tespit etmişler ve sugammadeksin oksidatif stresin önlenmesinde faydalı olabileceğini düşünmüşler [130]. Benzer şekilde biz de yapmış olduğumuz çalışmada MDA düzeylerini HG grubuna göre RIR, SIR4 ve SIR16 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek bulduk. SIR16 grubundaki MDA düzeylerindeki artışın diğer gruplara göre daha düşük olduğunu tespit ettik. tGSH düzeylerini ise tüm gruplarda sağlıklı gruba göre daha düşük bulduk. RIR ve SIR4 grubundaki tGSH düzeylerini de HG grubundaki tGSH düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulduk ($P<0.05$). SIR16 grubundaki tGSH düzeylerinin de sağlıklı gruptaki tGSH düzeylerine daha yakın olduğunu tespit ettik. Yapılan çalışmalardaki verilere dayanarak, yüksek serbest oksijen radikallerinin herhangi bir sistem veya organda iskemi-reperfüzyondan kaynaklanan hasara neden olduğu bilinmektedir. Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki denge bozulduğunda oksidatif hasar meydana gelir. Bulgularımız iskemi ve sonrasındaki reperfüzyonun neden olduğu zarardan serbest oksijen radikalleri ile oksidan-antioksidan arasındaki dengenin bozulmasından kaynaklandığını göstermektedir. Sonuçlarımız, serbest oksijen radikallerinin böbreğe zarar verebileceğini iddia eden daha önceki çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Yapılan çalışmalar, iskemi reperfüzyon hasarının IL-1 β , TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini artırdığını, oksidatif strese cevap olarak NF- κ B'nin aktive edilerek proinflamatuvar sitokinlerin üretimini artırıp organ hasarına neden olduğunu göstermektedir. Koç ve ark. yapmış oldukları çalışmada, sugammadeksin TNF- α ve IL-1 β seviyelerindeki artışı anlamlı düzeyde baskılayarak inflamasyonu azalttığını göstermiştir [130]. Yeşiltaş ve ark. sıçan akciğer dokusunda rokuronyumun neden olduğu alerjik inflamasyonda

sugammadexsin (96 mg/kg) etkisinin incelendiği bir çalışmada; sugammadexsin akciğerlerdeki lenfositik infiltrasyonu ve alveolar kalınlaşmayı inhibe ederek rokuronyumun neden olduğu alerjik inflamasyonu azalttığını göstermiştir [131]. Alagöz ve ark. sugammadexsin (4 ve 16 mg/kg) ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarına etkisinin incelendiği bir çalışmada; sugammadexsin, iskemi reperfüzyon işleminden sonra alt ekstremitte kaslarında dejenerasyonu, damar tıkanıklığını, ödemi ve inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu önemli ölçüde engellediğini tespit etmiştir [132]. Özbilgin ve ark. sugammadexsin (16 ve 100 mg/kg) serebral iskemi reperfüzyon hasarına etkisinin incelendiği bir çalışmada; sugammadexsin beyin dokusunu iskemi reperfüzyon hasarından koruduğunu bildirmiştir [133]. Biz de yapmış olduğumuz çalışmada IL-1 β , TNF- α ve NF- κ B düzeylerini HG grubuna göre RIR, SIR4 ve SIR16 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek bulduk. SIR16 grubundaki IL-1 β , TNF- α ve NF- κ B düzeylerindeki artışın diğer gruplara göre daha düşük olduğunu tespit ettik. Bu verilere dayanarak hasarlı böbreklerde var olan hasarın ilerlemesine neden olan bir diğer mekanizmanın da inflamasyon olduğu düşünülmektedir. Biz de çalışmamızda yapılmış çalışmalara paralel olarak, sugammadexsin inflamatuvar parametreleri baskılayarak iskemi reperfüzyon hasarını azalttığını tespit ettik.

Bostan ve ark. yapmış oldukları deneysel çalışmada rokuronyum veya sugammadexsin (16 ve 96 mg/kg) tek başına ve rokuronyum + sugammadexsin birlikte uygulanmasıyla üre, kreatinin, elektrolit düzeyleri ve histopatolojik bulgular üzerine etkisini incelemişler; yüksek dozda sugammadex uygulamasının böbrek fonksiyonlarının biyokimyasal parametreleri üzerine önemli ölçüde değişikliklere neden olmadığını tespit etmişlerdir [134]. Biz de çalışmamızda üre ve kreatinin değerlerini HG grubu ile karşılaştırıldığında RIR, SIR4 ve SIR16 gruplarında daha yüksek bulduk. SIR16 grubundaki üre ve kreatinin değerlerini ise RIR ve SIR4 gruplarına göre daha düşük bulduk. RIR ve SIR4 grubundaki üre ve kreatinin değerlerini HG grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek; SIR4 ve SIR16 grubundaki üre ve kreatinin değerlerini de RIR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük tespit ettik ($P<0.05$). Yüksek doz sugammadex uygulanan grupta üre ve kreatinin değerindeki artışın daha düşük olduğunu tespit ettik. Bu sonuçlara dayanarak literatürdeki çalışmalara paralel olarak sugammadexsin böbrek hasarını azalttığı söylenebilir.

Çalışmamızda SIR4 ve SIR16 gruplarındaki tüm histopatolojik bulguların RIR grubuna göre daha az olduğunu tespit ettik. SIR4 ve SIR16 gruplarının kendi aralarında karşılaştırılmasında, SIR16 grubunun özellikle nekrotik alanlar açısından SIR4 grubuna göre daha düşük skora sahip olduğunu saptadık. Özellikle RIR grubunda görülen ve SIR4

grubunda da izlenen konjesyon alanlarının SIR16 grubunda gözle görülür şekilde daha az olduğunu izledik. İnterstisyel bölgedeki fokal mononükleer hücre infiltrasyon alanları ve hemoraji/hiperemi varlığı RIR grubunda HG ve SIR16 gruplarına göre, interstisyel bölgedeki konjesyon alanları ve tübüler epitel hücrelerindeki dejeneratif değişiklikler/fokal nekroz alanları ise RIR grubunda HG grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulduk ($P<0.05$). İnterstisyel bölgedeki fokal mononükleer hücre infiltrasyon alanları, interstisyel bölgedeki konjesyon alanları, tübüler epitel hücrelerindeki dejeneratif değişiklikler/fokal nekroz alanları ve hemoraji/hiperemi varlığı açısından gruplar arasında yapılan diğer ikili karşılaştırmalarda fark olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi. Literatürü incelediğimizde Bostan ve ark.nın sadece 16 mg/kg ve 96 mg/kg dozlarında sugammadexin, sugammadex-rokuronyum etkilerinin ve sadece rokuronyumun sıçan böbrek histopatolojisi üzerine etkilerini kontrol grubuyla da karşılaştırarak yaptıkları çalışmada; rokuronyum ve yüksek dozda sugammadex uygulanan grupta, kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede artmış glomerüler vakuolizasyon, tübüler dilatasyon, vasküler vakuolizasyon ve hipertrofi, lenfosit infiltrasyonu ve tübüler hücre dökülmesi olduğunu tespit etmişler. Rokuronyum ve yüksek doz sugammadex verilen grup dışında tüm gruplarda distal ve proksimal tübül hücreleri normal bulunmuş. Ancak proksimal tübüllerdeki dejeneratif değişiklikler rokuronyum ve sugammadex verilen 2 grupta diğer gruplara göre daha belirgin bulunmuş. Rokuronyum ve sugammadex verilen gruplarda ratların renal interstisyumunda çoğunlukla lenfosit ve eozinofilik granülositlerin oluşturduğu inflamatuvar infiltrasyon gösterilmiştir, diğer gruplarda oluşan inflamatuvar infiltrasyon daha az belirgin bulunmuştur. Rokuronyum-sugammadex kompleksinin eliminasyon yarı ömrünün, serbest rokuronyum veya sugammadexsten daha uzun olduğu ve bunun da böbrek fonksiyonlarını etkilemeden böbrekte histopatolojik değişikliklere yol açtığını, sugammadex-rokuronyum uygulanan grupta görülen histopatolojik dejenerasyonun sadece rokuronyum veya sugammadex uygulanan gruplara göre daha fazla olduğu, sugammadexin tek başına böbrek dejenerasyonu üzerine etkisinin çok hafif olduğu sonucuna varılmış [134]. Benzer şekilde Kip ve ark. düşük ve yüksek dozlarda sugammadexin (16 mg/kg'a karşı 96 mg/kg) streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçanların böbrek doku örnekleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; histopatolojik değerlendirmede tüm inflamasyon parametrelerin (inflamasyon, dejenerasyon/nekroz, tübüler dilatasyon, tübüler hücre dejenerasyonu, bowman aralık dilatasyonu, renal tübüler hiyalin silendirler, lenfosit infiltrasyonu) 96 mg/kg sugammadex ve rokuronyum uygulanan grupta kontrol, diyabetik kontrol ve 16 mg/kg sugammadex

uygulanan gruplara göre anlamlı derecede daha yüksek olduğunu tespit etmişler [128]. Tercan ve ark. sugammadeksin böbrek iskemi reperfüzyon hasarına etkisini sadece histopatolojik parametrelerle araştırdıkları çalışmalarında; epitelyal fırçamsı kenar sınırı ve tübüler vakuolizasyon gibi hasar bulgularına göre yapılan değerlendirmelerde sugammadeks uygulanan grupta iskemi oluşturulan gruba göre anlamlı derecede daha az hasar meydana geldiği tespit etmişler [5]. Çalışmamızdaki histopatolojik veriler de literatürdeki çalışmalara benzer şekilde değerlendirilip daha yüksek dozlarda uygulanan sugammadeksin iskemi reperfüzyon hasarı patolojisine olumlu yönde katkı sağladığı söylenebilir.

Hipotezimize göre üre ve kreatinin düzeylerinde yükselme, IL-1 β , TNF- α , MDA ve NF-kB düzeylerinde artış ve histopatolojik değişiklikler oksidatif ve inflamatuvar süreçlerden kaynaklanabilir. Bu sonuçlar, genel histopatolojik değişikliklerin yanı sıra üre ve kreatinin düzeylerinde gözlenen anormalliklerden oksidatif ve inflamatuvar dengedeki değişikliklerin sorumlu olabileceğini göstermektedir.

Gruplar arasındaki hasar bazı biyokimyasal testlerle anlamlı olarak tespit edilmemiş olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulduğumuz histopatolojik verilerle desteklenmiştir. Sugammadeksin iskemi reperfüzyon hasarı üzerindeki histopatolojik iyileştirici etkisinin biyokimyasal parametrelere göre daha net bir şekilde tespit edilmiş olması, iskemi reperfüzyon hasarında inflamatuvar süreçlerin daha yaygın ve etkin olduğunu gösterebilir.

Sugammadeksin böbrek iskemi reperfüzyon hasarına etkisinin incelendiği literatürdeki çalışmalar sınırlı, yapılan çalışmalarda da yüksek doz sugammadeks üzerine çalışılmıştır. Biz ise çalışmamızda daha düşük doz sugammadeks üzerinde çalıştık. Dolayısıyla biyokimyasal parametrelerdeki istatistiksel olmayan artışlar; çalışma gruplarındaki sugammadeks dozlarının klinikte uyguladığımız rutin dozlar olmasından kaynaklanabilir. Buna rağmen sonuçlarımız literatürdeki çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Çalışmamızın bazı limitasyonları mevcuttur. Hayvan haklarına saygılı olmak adına mümkün olduğunca az rat kullanmaya çalıştığımızdan ve literatürdeki çalışmalara göre daha düşük doz sugammadeks kullandığımızdan dolayı çalışmamızdaki bazı biyokimyasal ve histopatolojik verilerin istatistiksel olarak anlamlı çıkmamasına neden olmuş olabilir. Çalışmamız deneysel bir çalışma olduğundan, türler arasındaki doğrudan doz ve farmakokinetik karşılaştırmalar, uygulama ve metabolizmada değişiklikler yaratabilir. Çalışmamızın bulguları yapılacak ileri çalışmalarla desteklenmelidir.

6 SONUÇ

Çalışmamızda; iskemi oluşturularak yapılan renal cerrahide sıkça karşılaşılan iskemi reperfüzyon hasarını azaltmak amacıyla, günümüz anestezi uygulamalarında, steroid yapılı nondepolarizan nöromüsküler kas gevşeticilerin etkisinin tersine döndürülmesinde de sıkça kullanılan bir farmakolojik ajan olan sugammadexs üzerinde çalıştık. Ratlar üzerinde farklı dozlarda uygulanan sugammadexsin antioksidan ve İnflamasyonu azaltıcı etkisini biyokimyasal ve histopatolojik veriler ile destekleyerek böbrek iskemi reperfüzyon hasarı üzerine koruyucu etkisinin olabileceğini, özellikle sugammadexsin yüksek dozlarında bu etkinin daha belirgin izlenebileceğini tespit ettik.

7 KAYNAKLAR

1. Özçiçek, A. and S. Halis, *Molecular Mechanism of Ischemia Reperfusion Injury İskemi Reperfüzyon Hasarının Moleküler Mekanizması*. 2020.
2. TAS, H.G., et al., *Effect Of Molnupiravir On Ichemia/Reperfusion Damage In Rat Liver; An Experimental Study*. 2023.
3. Erdem, K.T.O., et al., *Effect of tocilizumab on ischemia-reperfusion-induced oxido-inflammatory renal damage and dysfunction in rats*. 2022. **71**(4): p. 491-499.
4. Ahn, Y.J. and H. Kim, *Lutein as a Modulator of Oxidative Stress-Mediated Inflammatory Diseases*. Antioxidants (Basel), 2021. **10**(9).
5. Tercan, M., et al., *Nephroprotective efficacy of sugammadex in ischemia-reperfusion injury: an experimental study in a rat model*. 2021. **13**(6).
6. Williams, T.M., et al., *Phenotype and influx kinetics of leukocytes and inflammatory cytokine production in kidney ischemia/reperfusion injury*. Nephrology (Carlton), 2018. **23**(1): p. 75-85.
7. Perico, N., et al., *Delayed graft function in kidney transplantation*. Lancet, 2004. **364**(9447): p. 1814-27.
8. Li, J., et al., *Intralipid, a clinically safe compound, protects the heart against ischemia-reperfusion injury more efficiently than cyclosporine-A*. Anesthesiology, 2012. **117**(4): p. 836-46.
9. Malthouse, T., et al., *The future of partial nephrectomy*. Int J Surg, 2016. **36**(Pt C): p. 560-567.
10. Mir, M.C., et al., *Decline in renal function after partial nephrectomy: etiology and prevention*. J Urol, 2015. **193**(6): p. 1889-98.
11. Moens, A.L., et al., *Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex pathophysiological process*. Int J Cardiol, 2005. **100**(2): p. 179-90.
12. Bellomo, R., J.A. Kellum, and C. Ronco, *Acute kidney injury*. Lancet, 2012. **380**(9843): p. 756-66.
13. Kurkov, S.V. and T. Loftsson, *Cyclodextrins*. Int J Pharm, 2013. **453**(1): p. 167-80.
14. Abulrob, A., et al., *Protection by cholesterol-extracting cyclodextrins: a role for N-methyl-D-aspartate receptor redistribution*. J Neurochem, 2005. **92**(6): p. 1477-86.
15. Frank, C., et al., *Cholesterol depletion inhibits synaptic transmission and synaptic plasticity in rat hippocampus*. Exp Neurol, 2008. **212**(2): p. 407-14.
16. R., S., *Kas Gevşeticiler*, in *Lee's Synopsis of Anaesthesia*, T. IÖ., Editor. 2008, Güneş Tıp Kitabevi: İstanbul. p. 176-200.
17. J., H., *Excitation of Skeletal Muscle*, in *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. 2011: Elseiver.
18. Özatamer, O., et al., *Anesteziye güncel konular*. 2002: Nobel Tıp Kitabevi.
19. Miller, R.D., et al., *Miller's anesthesia e-book*. 2014: Elsevier Health Sciences.
20. Lee, C. and R.L. Katz. *Muscle Relaxants 2006: a clinical and basic science update and commentary*. in *Seminars in Anesthesia, Perioperative Medicine and Pain*. 2005. Elsevier.
21. Hunter, J.J.B.j.o.a., *Rocuronium: the newest aminosteroid neuromuscular blocking drug*. 1996. **76**(4): p. 481-483.
22. Naguib, M., et al., *Comparative potency of steroidal neuromuscular blocking drugs and isobolographic analysis of the interaction between rocuronium and other aminosteroids*. 1995. **75**(1): p. 37-42.

23. Orbey BC and T. M., *Nöromüsküler Bloke Edici İlaçlar*, in *Klinik Anesteziyoloji*, Tulunay M and C. H., Editors.: Güneş Tıp.
24. Hemmerling, T.M. and F. Donati, *Neuromuscular blockade at the larynx, the diaphragm and the corrugator supercilii muscle: a review*. Can J Anaesth, 2003. **50**(8): p. 779-94.
25. Woolf, R.L., M.W. Crawford, and S.M. Choo, *Dose-response of rocuronium bromide in children anesthetized with propofol: a comparison with succinylcholine*. Anesthesiology, 1997. **87**(6): p. 1368-72.
26. Beaufort, A.M., et al., *The influence of hypothermia (surface cooling) on the time-course of action and on the pharmacokinetics of rocuronium in humans*. Eur J Anaesthesiol Suppl, 1995. **11**: p. 95-106.
27. Bom, A., et al., *A novel concept of reversing neuromuscular block: chemical encapsulation of rocuronium bromide by a cyclodextrin-based synthetic host*. Angew Chem Int Ed Engl, 2002. **41**(2): p. 266-70.
28. Srivastava, A. and J.M. Hunter, *Reversal of neuromuscular block*. Br J Anaesth, 2009. **103**(1): p. 115-29.
29. Akha, A.S., et al., *Sugammadex: cyclodextrins, development of selective binding agents, pharmacology, clinical development, and future directions*. Anesthesiol Clin, 2010. **28**(4): p. 691-708.
30. Adam, J.M., et al., *Cyclodextrin-derived host molecules as reversal agents for the neuromuscular blocker rocuronium bromide: synthesis and structure-activity relationships*. J Med Chem, 2002. **45**(9): p. 1806-16.
31. Tüzüner, F.J.B.M.M. and N. Ankara, *Lokal anestezikler, Anestezi-Yoğun bakım-Ağrı. 1*. 2010: p. 225-237.
32. Epemolu, O., et al., *Reversal of neuromuscular blockade and simultaneous increase in plasma rocuronium concentration after the intravenous infusion of the novel reversal agent Org 25969*. Anesthesiology, 2003. **99**(3): p. 632-7; discussion 6A.
33. Gijzenbergh, F., et al., *First human exposure of Org 25969, a novel agent to reverse the action of rocuronium bromide*. Anesthesiology, 2005. **103**(4): p. 695-703.
34. Della Rocca, G. and L. Pompei, *A novel approach to reversal of neuromuscular blockade*. Minerva Anesthesiol, 2009. **75**(5): p. 349-51.
35. de Boer, H.D., et al., *Sugammadex, a new reversal agent for neuromuscular block induced by rocuronium in the anaesthetized Rhesus monkey*. Br J Anaesth, 2006. **96**(4): p. 473-9.
36. R.D, M., *Neuromuscular Physiology And Pharmacology*, in *In Miller's Anesthesia*, J.A.J. Martyn, Editor. 2010: Philadelphia. p. 341-361.
37. Mirakhur, R.K., *Sugammadex in clinical practice*. Anaesthesia, 2009. **64** Suppl 1: p. 45-54.
38. Jones, R.K., et al., *Reversal of profound rocuronium-induced blockade with sugammadex: a randomized comparison with neostigmine*. Anesthesiology, 2008. **109**(5): p. 816-24.
39. Goudsouzian, N.G. and F.G. Standaert, *The infant and the myoneural junction*. Anesth Analg, 1986. **65**(11): p. 1208-17.
40. Sorgenfrei, I.F., et al., *Reversal of rocuronium-induced neuromuscular block by the selective relaxant binding agent sugammadex: a dose-finding and safety study*. Anesthesiology, 2006. **104**(4): p. 667-74.
41. Boulanger, C. and T.F. Lüscher, *Release of endothelin from the porcine aorta. Inhibition by endothelium-derived nitric oxide*. J Clin Invest, 1990. **85**(2): p. 587-90.
42. AC, G., *The kidneys and body fluids*, in *Textbook of Medical Physiology*, G. AC, Editor. 1991: Philadelphia. p. 273-353.

43. Junqueira, L., et al., *Urinary System: Basic Histology*. 1992: p. 371-93.
44. Ğskemi-Reperfüzyon, S.E.D.B. and H.J.A.G.Ü.T.F. Everolimus, *un Oksidan-Antioksidan Sistem Ve Renal Histoloji Üzerine Etkileri (Tez)*. 2006.
45. Navar LG and C. PK, Mitchell KD *Renal circulation in*, in *Text book of nephrology*, Massry SG and G. RJ, Editors. 1995, Wiliams and Wilkins Baltimore. p. 41-54.
46. Junquera LC, Carnerio J, and K. RO, *Temel Histoloji*, in *Appleton&Lange* 1998: Barış Kitabevi. p. 363-77.
47. Oner, G.J.T.f., Guyton AC, Hall JE , 11th ed. Ankara, Nobel Tıp, *Böbreklerde idrar oluşumu: Glomerüler filtrasyon, böbrek kan akımı ve kontrolü*. 2007: p. 307-347.
48. Müftüoğlu, Y., et al., *Arıkan N*. 2007: p. 27-30.
49. Eşrefoğlu M, *Özel Histoloji, Üriner Sistem*. 2009.
50. Berne RM and L. MN, *Physiology*. 4th ed. 1994, New York
51. Liu, M., et al., *Effects of delayed rapamycin treatment on renal fibrosis and inflammation in experimental ischemia reperfusion injury*. Transplant Proc, 2009. **41**(10): p. 4065-71.
52. Guyton, A.J.T.o.m.p., *Urine formation by the kidneys: I. Glomerular filtration, renal blood flow, and their control*. 1996.
53. Srivastava, A. and J.J.B.j.o.a. Hunter, *Reversal of neuromuscular block*. 2009. **103**(1): p. 115-129.
54. WF., G., *Review of Medical Physiology*. Appleto&Lange Stamford. p. 409-686.
55. Cowled, P. and R.J.M.o.V.D.A.T.f.V.S. Fitridge, *Pathophysiology of reperfusion injury*. 2020: p. 415-440.
56. Xiao, X. and D.J.C.r. Allen, *Activity of the Na⁺/H⁺ exchanger is critical to reperfusion damage and preconditioning in the isolated rat heart*. 2000. **48**(2): p. 244-253.
57. Khalil, A.A., F.A. Aziz, and J.C. Hall, *Reperfusion injury*. Plast Reconstr Surg, 2006. **117**(3): p. 1024-33.
58. Paoni, N.F., et al., *Time course of skeletal muscle repair and gene expression following acute hind limb ischemia in mice*. 2002. **11**(3): p. 263-272.
59. Hierholzer, C., et al., *Hypoxia-inducible factor-1 activation and cyclo-oxygenase-2 induction are early reperfusion-independent inflammatory events in hemorrhagic shock*. Arch Orthop Trauma Surg, 2001. **121**(4): p. 219-22.
60. Baue, A.E. and W.W. McClerkin, *A STUDY OF SHOCK: ACIDOSIS AND THE DECLAMPING PHENOMENON*. Ann Surg, 1965. **161**(1): p. 41-5.
61. Carden, D.L. and D.N.J.T.J.o.p. Granger, *Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury*. 2000. **190**(3).
62. Ogawa, S., et al., *Hypoxia-induced increased permeability of endothelial monolayers occurs through lowering of cellular cAMP levels*. Am J Physiol, 1992. **262**(3 Pt 1): p. C546-54.
63. Hotchkiss, R.S., et al., *Cell death*. N Engl J Med, 2009. **361**(16): p. 1570-83.
64. Eltzschig, H.K. and P. Carmeliet, *Hypoxia and inflammation*. N Engl J Med, 2011. **364**(7): p. 656-65.
65. Carroll, M.C. and V.M. Holers, *Innate autoimmunity*. Adv Immunol, 2005. **86**: p. 137-57.
66. Chen, G.Y. and G. Nuñez, *Sterile inflammation: sensing and reacting to damage*. Nat Rev Immunol, 2010. **10**(12): p. 826-37.
67. Upperman, J.S., et al., *Post-hemorrhagic shock mesenteric lymph is cytotoxic to endothelial cells and activates neutrophils*. Shock, 1998. **10**(6): p. 407-14.
68. Carden, D.L. and D.N.J.T.J.o.p. Granger, *Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury*. 2000. **190**(3): p. 255-266.

69. Zimmerman, B.J. and D.N. Granger, *Mechanisms of reperfusion injury*. Am J Med Sci, 1994. **307**(4): p. 284-92.
70. Anaya-Prado, R., et al., *Ischemia/reperfusion injury*. J Surg Res, 2002. **105**(2): p. 248-58.
71. Kleikers, P.W., et al., *NADPH oxidases as a source of oxidative stress and molecular target in ischemia/reperfusion injury*. J Mol Med (Berl), 2012. **90**(12): p. 1391-406.
72. Patel, N.S., et al., *Reduction of renal ischemia-reperfusion injury in 5-lipoxygenase knockout mice and by the 5-lipoxygenase inhibitor zileuton*. Mol Pharmacol, 2004. **66**(2): p. 220-7.
73. Ślupski, M., et al., *Nitric oxide and thromboxane A2 modulate pulmonary pressure after ischemia and intestinal reperfusion*. Transplant Proc, 2006. **38**(1): p. 334-7.
74. Tassiopoulos, A.K., et al., *Role of nitric oxide and tumor necrosis factor on lung injury caused by ischemia/reperfusion of the lower extremities*. J Vasc Surg, 1997. **26**(4): p. 647-56.
75. de Vries, D.K., et al., *Early renal ischemia-reperfusion injury in humans is dominated by IL-6 release from the allograft*. Am J Transplant, 2009. **9**(7): p. 1574-84.
76. Hoste, E.A.J., et al., *Global epidemiology and outcomes of acute kidney injury*. Nat Rev Nephrol, 2018. **14**(10): p. 607-625.
77. Basile, D.P., M.D. Anderson, and T.A. Sutton, *Pathophysiology of acute kidney injury*. Compr Physiol, 2012. **2**(2): p. 1303-53.
78. Kellum, J.A., et al., *Developing a consensus classification system for acute renal failure*. Curr Opin Crit Care, 2002. **8**(6): p. 509-14.
79. Gameiro, J., et al., *Acute Kidney Injury Definition and Diagnosis: A Narrative Review*. J Clin Med, 2018. **7**(10).
80. Shin, S.R., et al., *Prediction and prevention of acute kidney injury after cardiac surgery*. 2016. **2016**.
81. Aksu, U., C. Demirci, and C. Ince, *The pathogenesis of acute kidney injury and the toxic triangle of oxygen, reactive oxygen species and nitric oxide*. Contrib Nephrol, 2011. **174**: p. 119-128.
82. Tögel, F. and C. Westenfelder, *Recent advances in the understanding of acute kidney injury*. F1000Prime Rep, 2014. **6**: p. 83.
83. Gonzalez, S.R., et al., *Acute kidney injury overview: From basic findings to new prevention and therapy strategies*. Pharmacol Ther, 2019. **200**: p. 1-12.
84. Hesketh, E.E., et al., *Renal ischaemia reperfusion injury: a mouse model of injury and regeneration*. J Vis Exp, 2014(88).
85. Mårtensson, J., C.R. Martling, and M. Bell, *Novel biomarkers of acute kidney injury and failure: clinical applicability*. Br J Anaesth, 2012. **109**(6): p. 843-50.
86. Singer, E., et al., *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: pathophysiology and clinical applications*. Acta Physiol (Oxf), 2013. **207**(4): p. 663-72.
87. Bolignano, D., et al., *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of kidney damage*. Am J Kidney Dis, 2008. **52**(3): p. 595-605.
88. Flower, D.R., A.C. North, and C.E. Sansom, *The lipocalin protein family: structural and sequence overview*. Biochim Biophys Acta, 2000. **1482**(1-2): p. 9-24.
89. Schmidt-Ott, K.M., *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury--where do we stand today?* Nephrol Dial Transplant, 2011. **26**(3): p. 762-4.
90. Schmidt-Ott, K.M., et al., *Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin*. J Am Soc Nephrol, 2007. **18**(2): p. 407-13.

91. Bagshaw, S.M., et al., *Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in septic versus non-septic acute kidney injury in critical illness*. Intensive Care Med, 2010. **36**(3): p. 452-61.
92. Cai, L., et al., *The origin of multiple molecular forms in urine of HNL/NGAL*. Clin J Am Soc Nephrol, 2010. **5**(12): p. 2229-35.
93. Mishra, J., et al., *Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury*. J Am Soc Nephrol, 2003. **14**(10): p. 2534-43.
94. Arakawa, Y., et al., *Influence of renal ischaemia-reperfusion injury on renal neutrophil gelatinase-associated lipocalin receptor (24p3R) in rats*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2019. **46**(12): p. 1166-1173.
95. Murray RK, et al., *Harper's Biochemistry*. 2000, USA.
96. Özer, Ç. and B.J.G.M.J. Gönül, *DİYABETİK SIÇANLARDA ASKORBİK ASİT UYGULAMASININ KARACİĞERDE OKSİDAN OLAYLARA ETKİSİ*. 2006. **17**(4).
97. Gaestel, M., A. Kotlyarov, and M. Kracht, *Targeting innate immunity protein kinase signalling in inflammation*. Nat Rev Drug Discov, 2009. **8**(6): p. 480-99.
98. Weber, A., P. Wasiliew, and M. Kracht, *Interleukin-1 (IL-1) pathway*. Sci Signal, 2010. **3**(105): p. cm1.
99. Liu, Y.C., U.H. Lerner, and Y.T. Teng, *Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles*. Periodontol 2000, 2010. **52**(1): p. 163-206.
100. Dinarello, C.A. and B.J. Pomerantz, *Proinflammatory cytokines in heart disease*. Blood Purif, 2001. **19**(3): p. 314-21.
101. Schett, G., J.M. Dayer, and B. Manger, *Interleukin-1 function and role in rheumatic disease*. Nat Rev Rheumatol, 2016. **12**(1): p. 14-24.
102. Dinarello, C.A., *Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family*. Annu Rev Immunol, 2009. **27**: p. 519-50.
103. Harris, K.M., A. Fasano, and D.L. Mann, *Cutting edge: IL-1 controls the IL-23 response induced by gliadin, the etiologic agent in celiac disease*. J Immunol, 2008. **181**(7): p. 4457-60.
104. Warren, J.S., *Interleukins and tumor necrosis factor in inflammation*. Crit Rev Clin Lab Sci, 1990. **28**(1): p. 37-59.
105. Feghali, C.A. and T.M. Wright, *Cytokines in acute and chronic inflammation*. Front Biosci, 1997. **2**: p. d12-26.
106. Delima, A.J., et al., *Soluble antagonists to interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis*. J Clin Periodontol, 2001. **28**(3): p. 233-40.
107. Ruuls, S.R. and J.D. Sedgwick, *Unlinking tumor necrosis factor biology from the major histocompatibility complex: lessons from human genetics and animal models*. Am J Hum Genet, 1999. **65**(2): p. 294-301.
108. Taylor, J.J., *Cytokine regulation of immune responses to Porphyromonas gingivalis*. Periodontol 2000, 2010. **54**(1): p. 160-94.
109. Bradley, J.R., *TNF-mediated inflammatory disease*. J Pathol, 2008. **214**(2): p. 149-60.
110. Ware, C.F., *The TNF superfamily*. Cytokine Growth Factor Rev, 2003. **14**(3-4): p. 181-4.
111. Katz, Y., O. Nadiv, and Y. Beer, *Interleukin-17 enhances tumor necrosis factor alpha-induced synthesis of interleukins 1,6, and 8 in skin and synovial fibroblasts: a possible role as a "fine-tuning cytokine" in inflammation processes*. Arthritis Rheum, 2001. **44**(9): p. 2176-84.
112. Baldwin, A.S., Jr., *Series introduction: the transcription factor NF-kappaB and human disease*. J Clin Invest, 2001. **107**(1): p. 3-6.

113. Sen, R. and D. Baltimore, *Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein Nf-kappa B by a posttranslational mechanism*. Cell, 1986. **47**(6): p. 921-8.
114. Baeuerle, P.A., *Pro-inflammatory signaling: last pieces in the NF-kappaB puzzle?* Curr Biol, 1998. **8**(1): p. R19-22.
115. Abraham, E., *NF-kappaB activation*. Crit Care Med, 2000. **28**(4 Suppl): p. N100-4.
116. Gupta, S.C., et al., *Inhibiting NF-κB activation by small molecules as a therapeutic strategy*. Biochim Biophys Acta, 2010. **1799**(10-12): p. 775-87.
117. Schmukle, A.C. and H. Walczak, *No one can whistle a symphony alone - how different ubiquitin linkages cooperate to orchestrate NF-κB activity*. J Cell Sci, 2012. **125**(Pt 3): p. 549-59.
118. Shishodia, S. and B.B. Aggarwal, *Nuclear factor-kappaB: a friend or a foe in cancer?* Biochem Pharmacol, 2004. **68**(6): p. 1071-80.
119. B rk , M.K., et al., *K peklerde xylazine uygulamasına bağlı geli en bulantı ve kusmanın  nlenmesinde antihistaminik kullanımı*. 2005. **24**(1-2-3-4): p. 99-104.
120. KARABAğLI, M.,  . K r at, and I.J. . .V.F.D.  AH N, *The effects of xylazine-ketamine anesthesia on intraocular pressure in dogs*. 2014. **40**(2): p. 260-263.
121. Morgan G, M. Mikhail, and M. Murray., *Lange Klinik Anesteziyoloji*. 5. Baskı. ed. 2015, G nes Tıp Kitabevleri.
122. Kumar, V., A.K. Abbas, and J.C.J.R.b.p. Aster, *Cell injury, cell death, and adaptations*. 2013. **8**: p. 1-30.
123. Kalogeris, T., et al., *Cell biology of ischemia/reperfusion injury*. 2012. **298**: p. 229-317.
124. Jordan, J.E., Z.-Q. Zhao, and J.J.C.r. Vinten-Johansen, *The role of neutrophils in myocardial ischemia–reperfusion injury*. 1999. **43**(4): p. 860-878.
125. Collard, C.D. and S. Gelman, *Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury*. Anesthesiology, 2001. **94**(6): p. 1133-8.
126. Zhang, M., et al., *Pentoxifylline attenuates cardiac dysfunction and reduces TNF-  level in ischemic-reperfused heart*. 2005. **289**(2): p. H832-H839.
127. DEM RTA , A., *RATLARDA ALT EKSTREM TE  SKEM -REPERFÜZYON HASARI SONRASI OZON KULLANIMININ BÖBREK VE AKC ğER DOKUSU  ZER NDEK  ETK LER *, in *ANESTEZ YOLOğ  VE REAN MASYON ANABÖLÜM DALI*. 2022, GAZ   N VERS TES  T P FAK LTES .
128. Kip, G., et al., *The effects of low and high doses of sugammadex on kidney tissue in streptozotocin-induced diabetic rats*. Bratisl Lek Listy, 2015. **116**(12): p. 746-50.
129. Doğrul, F., et al., *Tek taraflı üreter obstrüksiyonu ile erken ve geç dönem böbrek yetmezliği olu turulan sıçanlarda yüksek doz sugammadex kullanımının böbrek dokusu üzerine etkilerinin ara tırılması*.
130. Ko , A., et al., *The effects of sugammadex on gastric ischemia-reperfusion injury in rats: Biochemical and histopathological evaluation*. 2023. **42**(1).
131. Ye ilta , S., et al., *Does Sugammadex Suppress Allergic Inflammation Due to Rocuronium in Animal Model of Rat?* 2021.
132. Alag z, A., et al., *Effects of sugammadex on ischemia reperfusion in a rat extremity model*. 2020. **26**(4).
133. Ozbilgin, S., et al., *Effectiveness of sugammadex for cerebral ischemia/reperfusion injury*. 2016. **32**(6): p. 292-301.
134. Bostan, H., et al., *Reversal of rocuronium-induced neuromuscular block with sugammadex and resulting histopathological effects in rat kidneys*. 2011. **33**(10): p. 1019-1024.