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

DİYABETİK SIÇANLARDA RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA İKİ FARKLI ZAMANDA UYGULANAN DEKSMEDETOMİDİNİN ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

DR.ÖZGE BATAR

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2016

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

DİYABETİK SIÇANLARDA RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA İKİ FARKLI ZAMANDA UYGULANAN DEKSMEDETOMİDİNİN ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR.ÖZGE BATAR

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Sevda ÖZKARDEŞLER

TEŞEKKÜR

Asisanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yaralandığım başta Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof.Dr.Erol Gökel'e, Sayın Prof.Dr.Ali Günerli'ye, Prof.Dr.Atalay Arkan'a, Prof.Dr.Semih Küçükgüçlü'ye, Prof.Dr.Ali Necati Gökmen'e, Prof.Dr.Sermin Öztekin'e, Prof.Dr.Bahar Kuvaki Balkan'a, Prof.Dr.Deniz Özzeybek'e, Prof.Dr.Leyla İyilikçi Karaoğlan'a, Prof.Dr.Hasan Hepağuşlar'a, Prof.Dr.Ayşe Karcı'ya, Prof.Dr.Fikret Maltepe'ye, Prof.Dr.Uğur Koca'ya, Prof.Dr.Çimen Olguner'e, Doç.Dr.Ferim Günenç'e, Doç.Dr.Yüksel Erkin'e, Doç.Dr.Bülent Serhan Yurtlu'ya, Doç.Dr.Volkan Hancı'ya, Yrd.Doç.Dr.Aydın Taşdöğen'e, Yrd.Doç.Dr.Mert Akan'a, ;

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

Tezimde emeği geçen Prof.Dr.Mehmet Ensari Güneli, Prof.Dr.Bekir Uğur Ergür, Doç.Dr.Ali Rıza Şişman, Doç.Dr.Reci Meseri Dalak ve canım ablam Uzm.Dr.Şule Özbilgin'e,;

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

Bugünlere gelmemde büyük emeği olan aileme ve benim en güzel hediyeme biricik kızıma;

Sonsuz Teşekkürler...

ÖZGE BATAR

İÇİNDEKİLER **Sayfa No**

TABLO LİSTESİ ..... **III**

ŞEKİL LİSTESİ ..... **IV**

RESİM LİSTESİ ..... **V**

KISALTMALAR ..... **VI**

ÖZET **1**

SUMMARY **2**

1.GİRİŞ VE AMAÇ **3**

2.GENEL BİLGİLER **4**

2.1 İskemi **4**

2.2 Reperfüzyon **6**

2.3 Renal İskemi Reperfüzyon Hasarı **7**

2.4 Deksmedetomidin **10**

2.5 Diyabetes Mellitus **11**

2.6 NGAL (Nötrofil İlişkili Lipokalin) **14**

3. GEREÇ VE YÖNTEM **16**

3.1 Diyabet Modeli **16**

3.2 Anestezi Uygulaması **16**

3.3 Deney Grupları ve Protokol **17**

3.4 Deneysel Çalışma Modeli **18**

3.5 Renal İskemi Reperfüzyon Modeli **20**

3.6 Biyokimyasal Değerlendirme **20**

3.7 Renal Dokusunun Histomorfolojik Değerlendirilmesi **21**

3.8 Dışlama **22**

3.9 İstatistiksel Değerlendirme **22**

4.BULGULAR **23**

4.1 Renal Histomorfolojik Hasar Skoru **23**

4.2 Biyokimyasal Bulgular **33**

5.TARTIŞMA 36

6.SONUÇ 42

7.KAYNAKLAR 43

EK 54

TABLO LİSTESİ **Sayfa No**

Tablo 1: Grupların histopatolojik skorları. 25

Tablo 2: Grupların 4 saatlik reperfüzyon sonrası biyokimyasal parametreleri 35

ŞEKİL LİSTESİ **Sayfa No**

Şekil 1: Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının sebepleri ve sonuçları 5

Şekil 2: İskemi reperfüzyon hasarı sırasında oluşan moleküller 6

Şekil 3: İskemi reperfüzyon hasarında meydana gelen olaylar dizisi.....10

Şekil 4: Deksmedetomidinin yapısal formülü.....10

Şekil 5: Deney protokolünün şematik görünümü 18

RESİM LİSTESİ **Sayfa No**

Resim 1: Anestezi altında laparotomi uygulanması……...19

Resim 2: Renal pediküllerin açığa çıkarılması……...…20

KISALTMALAR

İR **:** İskemi Reperfüzyon

UİÖK **:** Uzak İskemik Önkoşullama

DM **:** Diyabetes Mellitus

NGAL **:** Nötrofil İlişkili Lipokalin

dk. : Dakika

KÜN **:** Kan Üre Nitrojeni

SOR **:** Serbest Oksijen Radikalleri

SIYS **:** Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu

K^+ **:** Potasyum

Na^+ : Sodyum

Cl^- : Klor

ATP **:** Adenozin Trifosfat

AMP **:** Adenozin Monofosfat

KDH **:** Ksantin Dehidrogenaz

KO **:** Ksantin Oksidaz

NAD^+ : Nikotinamid Adenin Dinükleotid

O_2^- **:** Süperoksit

ARY **:** Akut Renal Yetmezlik

GFH **:** Glomerüler Filtrasyon Hızı

STZ **:** Streptozosin

i.p **:** İntraperitoneal

ÖZET

Diyabetik Sıçanlarda Renal İskemi Reperfüzyon Hasarına İki Farklı Zamanda Uygulanan Deksmedetomidinin Etkilerinin Karşılaştırılması

Dr.Özge Batar, DEÜTF Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD, İZMİR

Amaç: Bu çalışmada amacımız, deneysel diyabetik sıçan modelinde, diyabetik sıçan renal iskemi reperfüzyon (İR) hasarında iskemi öncesi ve sonrası deksmedetomidin etkisini 4.saatte alınan kan örneğindekan üre nitrojeni (KÜN), kreatinin, Nötrofil İlişkili Lipokalin **(**NGAL) düzeylerini biyomarker olarak kullanarak ve doku örneklerini histopatolojik olarak değerlendirerek araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada ağırlıkları 250-300 g arasında değişen 35 adet sıçan kullanıldı. Diyabet modeli oluşturmak için 45 mg/kg streptozosin (STZ) intraperitoneal (i.p.) uygulandı, kan şekeri > 250 mg/dL olan sıçanlar diyabetik kabul edildi, bir ay izlendikten sonra çalışmaya başlandı. Sıçanlar 5 gruba ayrıldı; grup I (Kontrol Sham,n=7) diyabetik olmayan sıçanlar laparotomi sonrası anestezinin 65.dk.'sında renal pediküller açığa çıkarılarak toplam 350 dk. anestezi altında bekletildi, grup II (Diyabetik Sham,n=7) aynı işlem diyabetik sıçanlarda tekrarlandı, grup III (Diyabetik İR,n=7) diyabetik sıçanlarda 65.dk.'da renal pediküllere klemp konuldu, 45 dk. iskemi uygulanıp ardından 4 saat reperfüzyon yapıldı, grup IV (Diyabetik İR+Deks–İÖ,n=7) diyabetik sıçanlarda anestezinin 60.dk.'da 100 µg/kg i.p. deksmedetomidin verildi, 65.dk.'da sol ve sağ renal pediküle klemp konarak 45 dk. iskemi uygulandı, 4 saat reperfüzyon yapıldı, grup V (Diyabetik İR+Deks-İS, n=7) diyabetik sıçanlarda reperfüzyonun 5.dk.'sı anestezinin 70.dk.'sında 100 µg/kg ip deksmedetomidin verildi ve 4 saat reperfüzyon yapıldı.

Bulgular: Kontrol sham grubundaki proksimal tübül hasar skoru diğer gruplara göre anlamlı düşük bulundu. Diyabetik İR grubunun proksimal tübül ve total hücre hasar skoru diyabetik İR+Deks-İS grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu, diyabetik İR+Deks-İÖ grubu ile arasında anlamlı fark saptanmadı.

Sonuç: Diyabetik sıçan renal İR modelinde deksmedetomidinin iskemi sonrası uygulanması bu hasarın önlenmesinde iskemi öncesi uygulamaya kıyasla histopatolojik hasar skorlarında daha etkin bulunmuş olsa da bu çalışma ile deksmedetomidinin diyabetes mellitusda etkin ve tam bir koruma sağladığı gösterilememiştir.

SUMMARY

Comparison of the effects of dexmedetomidine administered at two different times to renal ischemia reperfusion injury in diabetic rats

Özge Batar, M.D. DEUTF Anesthesiology and Reanimation Dept., IZMIR

Aim: In this study, we aimed to investigate the effects of dexmedetomidine before and after ischemia in diabetic rat kidney ischemia reperfusion (IR) injury in the experimental diabetic rat model by using blood urea nitrogen (BUN), creatinine and neutrophil gelatinase associated liphocalin (NGAL) levels in the 4th hour blood sample as biomarkers and by making histopathological assessment of tissue samples.

Material and Method: In our study, 35 rats weighing between 250-300 g were used. 45 mg / kg streptozocin (STZ) was administered intraperitoneally (i.p.) to induce diabetes,Rats with blood glucose> 250 mg / dL were acceptedas diabetic and the study was started after one month of follow-up.Rats were divided into 5 groups; in group I (Control Sham, n=7) non-diabetic rats were excised on the 65th minute of the anesthesia after laparotomy and the kidney pedicles were exposed and kept under anesthesia for about 350 minutes, in group II (Diabetic Sham,n=7) the same procedurewas repeated in diabetic rats, in group III (DiabeticIR,n=7) pedicles were clamped at 65th minute in diabetic rats and 45 minutes of ischemia was applied and then 4 hour of reperfusion was applied, in group IV (Diabetic IR+Dex–BI,n=7) in diabetic rats was 100 µg / kg i.p. dexmedetomidine was administered at 60th minutes of anesthesia, at 65thminute left and right kidney pedicles were clamped and ischemia was applied for 45 minutes, reperfusion was applied for the next 4 hours, in group V (Diabetic IR+Deks-AI, n=7) dexmedetomidine at 100 mg / kg ip was given at the 5th minute of reperfusion and 70th minute of the anesthesia in diabetic rats and reperfusion was applied for 4 hours.

Findings: The proximal tubule injury score in the control sham group was significantly lower than other groups. The proximal tubule and total cell damage scores of the diabetic IR group were significantly higher than that of diabetic IR+Dex-AI group and no significant difference was detected with diabetic IR+Dex-BI group.

Conclusion: Although the administration of dexmedetomidine after ischemia in the diabetic rat renal IR model was found to be more effective in the histopathological injury scores compared to the pre-ischemic administration for the prevention of this damage; this study has not shown that dexmedetomidine provides effective and complete protection in diabetes mellitus.

1.GİRİŞ VE AMAÇ;

Akut renal yetmezlik; hipotansiyon, hipovolemi ve dehidratasyon sonrası perfüzyon bozukluğunda; kardiyak, torasik, vasküler ve transplant cerrahilerinde iskemi reperfüzyon (İR) hasarına bağlı olarak görülebilir, sonucunda renal ekskresyon yeteneğinde bozulma, sıvı ve elektrolit denge bozukluğu ortaya çıkar (1-4).

İskemi reperfüzyon hasarında deksmedetomidinin etkisi pek çok ekip tarafından çalışılmıştır (5-7). Gönüllü ve ark (6) hem iskemi öncesi hem de reperfüzyon başlangıcında uygulanan deksmedetomidin ile renal İR hasarının histopatolojik olarak azaldığı gösterilmiş, reperfüzyon döneminde verilen deksmedetomidinin İR hasar grubu ile kıyaslandığında daha etkin olduğunu bulmuştur. Bağcık ve ark (7) deksmedetomidinin hem tek başına hem de uzak iskemik önkoşullama (UİÖK) ile birlikte uygulandığında renal İR hasarını histomorfolojik olarak anlamlı düzeyde azalttığını saptamıştır (7).

Diyabetes mellitus(DM)un gerek klinik gerekse deneysel modellerde akut renal hasarlanma eğilimini artırdığı çeşitli literatürlerde tanımlanmıştır (8-10). Akan ve ark (11) diyabetik sıçan modelinde iskemi öncesi ve sırasında uygulanan magnezyum sülfatın histomormolojik ve immünohistokimyasal olarak renal iskemi reperfüzyon hasarını azalttığını saptamıştır.

Nötrofil ilişkili lipokalin (NGAL), akut renal hasar sonrası 2-6 saat içinde hem idrarda hem de serumda saptanabilmektedir. Bu nedenle, NGAL'in akut renal hasarı belirlemede duyarlılık ve özgüllüğü en yüksek parametre olduğu öne sürülmüştür (12).

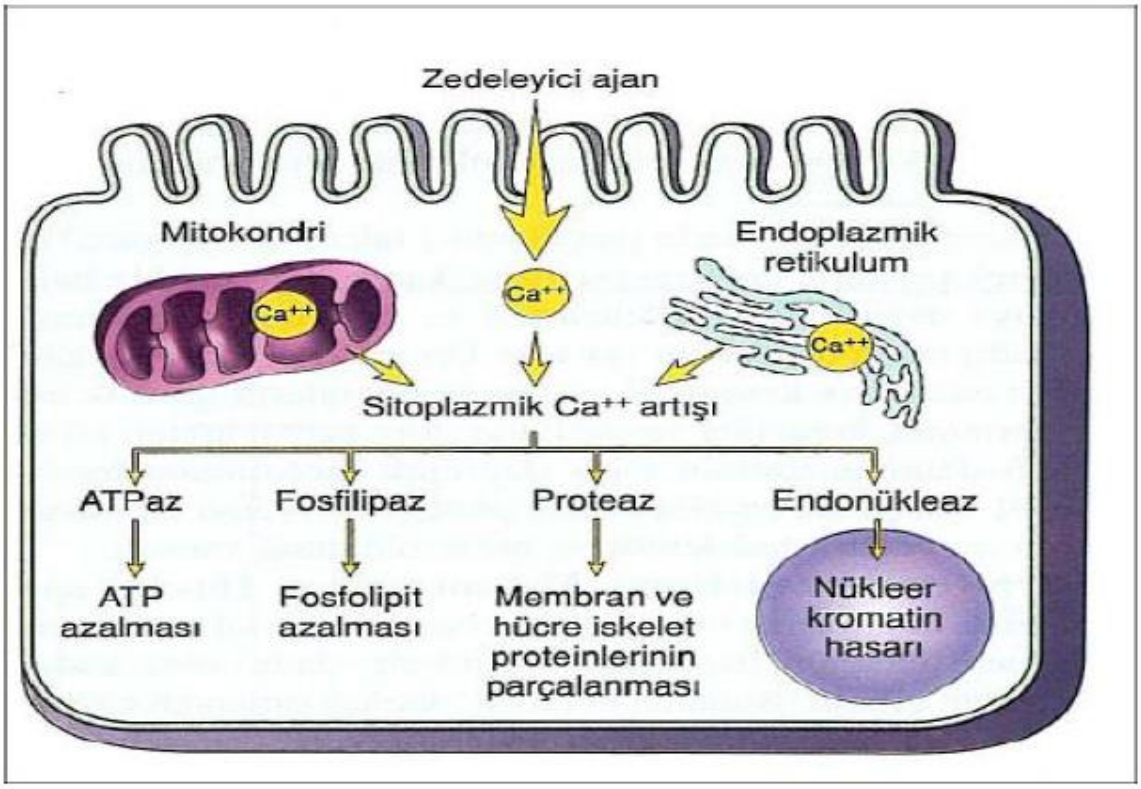
Bu çalışmada amacımız, deneysel diabetik sıçan modelinde, diyabetik sıçan renal İR hasarında iskemi öncesi ve sonrası deksmedetomidin etkisini 4.saatte alınan kan örneğinde kan üre nitrojeni (KÜN), kreatinin, NGAL düzeylerini biyomarker olarak kullanarak ve doku örneklerini histopatolojik olarak değerlendirerek araştırmaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 İskemi

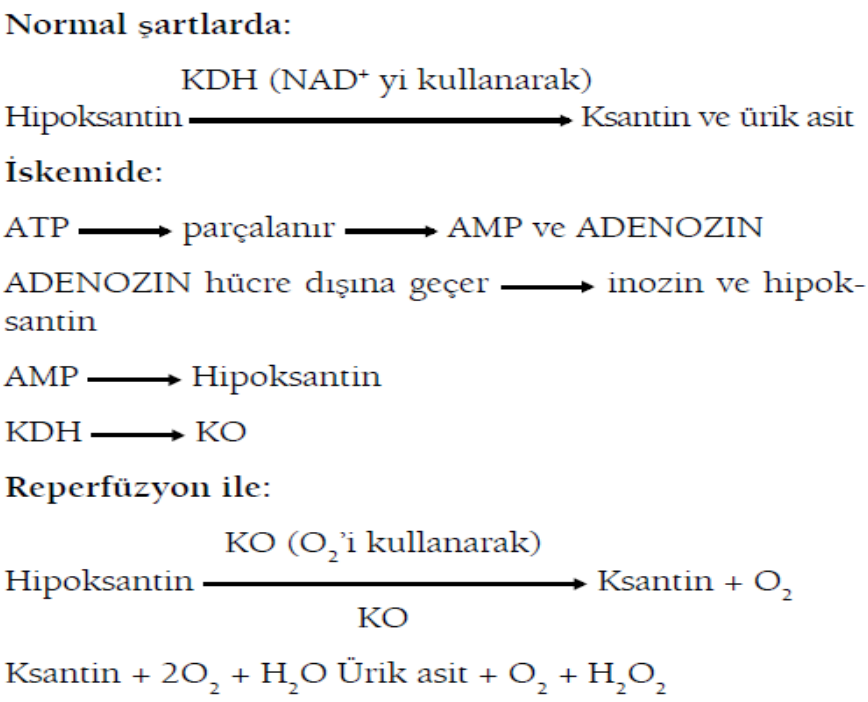
İskemi, organ kan akımında azalma sonucunda oksijen ve besin maddelerinin dokulara yeterli düzeyde ulaşamamasıdır. Bu olay geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre zedelenmesine yol açar. İskeminin neden olduğu patolojik süreçler sık karşılaşılan ve yaşamı tehdit eden durumlardır (13). İskemi sonrası kan akımının tekrar başlaması (reperfüzyon) iskeminin dokuda oluşturduğu hasardan daha fazla hasar oluşturur (14).

İskemik periyod süresince dokuda toksik etkisi olanserbest oksijen radikalleri (SOR) üretilir. Reperfüzyon sırasında SOR endotel hasarı, mikrovasküler permeabilitede artış ve dokuda ödeme neden olmaktadır (14,15). Adezyon molekülleri ve sitokinlerin aktive olması da sistemik inflamatuvar yanıt sendromu(SIYS)nu başlatabilir. Bu yanıtlar İR hasarı olarak tanımlanır (15). İskemi sırasında hücre membranında bulunan sodyum-potasum pompasının çalışması için gerekli olan enerji sağlanamaz. Bunun sonucunda potasyum (K^+) iyonları hücre dışına çıkarken sodyum (Na^+) ve klorür (Cl^-) iyonları da hücre içine girerler. Adenozin trifosfat (ATP) ihtiyacı anaerobik glikolizle karşılanmaya çalışılır, bu da laktik asit üretimi ile sonuçlanır. Biriken karbondioksit karbonik asit oluşumuna neden olur, böylece asidoz artar. İki dakikalık iskemi sonrasında özellikle beyin hücrelerinde ekstrasellüler pH 7.3'ten 6.7'ye kadar düşebilmektedir. Adenozin trifosfat bağımlı çalışan diğer bir pompa ise ekstrasellüler ve intrasellüler kalsiyum (Ca^{+2}) pompasıdır. İntrasellüler Ca^{+2}artışı ile proteolitik enzimler ve fosfolipazlar aktive olur. Fosfolipaz A_2 aktivasyonu ile membran fosfolipidleri bozulmaya başlar, plazma ve mitokondriyal membran biyoenerjitikleri ve geçirgenlikleri de değişir (16). Fosfolipaz aktivasyonu araşidonik asit yapımı ile sonuçlanır. Araşidonik asit direkt etkiyle mitokondriyal enzimleri inhibe eder ve serbest radikal oluşumunu artırır (17).



Şekil 1: Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının sebepleri ve sonuçları. (Ca^{++}: Kalsiyum, ATP:Adenozin trifosfat)

Hipoksi sırasında ATP üretiminin durmasına rağmen kullanımı devam eder. Yüksek enerjili ATP'nin fosfat bağlarının kopmasıyla adenozin monofosfat (AMP) oluşur ve adenozine kadar indirgenir. Adenozin, inozin üzerinden hipoksantine indirgeneceği ekstrasellüler aralığa hızla dağılır (16,18,19). İskemi sonucu yüksek enerjili fosfatbileşiklerinin yıkımı, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrojenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne yol açar. Adenozin A_1 reseptörleri üzerinden sinaptik transmisyonu ve presinaptik Ca^{+2}'nın geçişini inhibe ederek intrasellüler Ca^{+2} artışına neden olur, K^+ ilişkili glutamat salınımını azaltır (20). Normal şartlarda hipoksantin ürik asite metabolize olur ve bu reaksiyonda elektron alıcı nikotinamidadenindinükleotidin okside formudur. Ancak hipoksi ya da iskemi nedeniyle KDH, KO'ya dönüştüğünden hipoksantinin ürik asite dönüşümü KO tarafından gerçekleşir ve bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılır (18). Reperfüzyonun başlaması ile KO hipoksantini ksantine, ksantini de ürik aside dönüştürür ve bu sırada serbest oksijen radikalleri oluşur (16,18,19).



Şekil 2: İskemi reperfüzyon hasarısırasında oluşan moleküller. (KDH: Ksantin dehidrogenaz, NAD: Nikotinamid adenindinükleotid, ATP: Adenozin trifosfat, AMP:Adenozin monofosfat, KO: Ksantin oksidaz, H_2O_2: Hidrojen peroksit)

Serbest oksijen radikallerinin ilk oluşanı ve öncüsü genellikle stabil olmayan vehidrojen peroksit ile oksijene dönüşen süperoksit radikalidir (21). Fagositoz göreviyapan makrofaj, nötrofil ve monositler tarafından enzimatik olarak üretilirler (22). Hidrojen peroksit hücre membranlarından geçebilen, endotelyal hücreleri hasarlayabilen bir sitokindir (21).

2.2 Reperfüzyon

İskemik dokudaki kan dolaşımının yeniden sağlanmasına reperfüzyon denir ve ilaçlarla veya mekanik müdahalelerle olabilir.İskemi sonrası kan akımının tekrar başlaması iskeminin oluşturduğu hasarı artırır ve iskemik dokularda iskeminin oluşturduğu hasardan daha fazlasına yol açabilir (14,23). İskemi ve reperfüzyon periyotlarından oluşan bu zararlı etkilerin tümü İR hasarı olarak adlandırılır (24).

İskemi reperfüzyon hasarı klinik olarak sıklıkla transplantasyon, iskemik serebrovasküler olay (stroke), miyokard enfarktüsü, şok, resüsitasyon ve turnike uygulamaları sonrasında görülmektedir (18).

İskemi reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Özellikle dört faktör hasarın başlıca nedenleri arasında yer almaktadır (25):

1) Serbest oksijen radikalleri,

2) Polimorf nüveli lökositler

3) Kompleman sistemi,

4) Endotel hücreleri.

Reperfüzyon ile dokuya tekrar ulaşan oksijen nedeniyle toksik SOR oluşur, hücre membranında lipid peroksidasyonu meydana gelir, direkt hücre hasarına yol açar ve araşidonik asit üretimiyle prostoglandin oluşumunu artırarak lökositleri aktive eder (26). Süperoksit radikalleri ile aktive olan lökositler vasküler endotel ile etkileşime girer. Lökosit yüzeyindeki P-selektin glikoprotein I ile endoteliyal P-selektin etkileşimi lökosit göçündeki ilk adımı oluşturur.

Dokuya gelen aktive lökositler toksik oksijen radikalleri, proteaz, elastaz, kollajenaz, laktoferrin ve katyonik proteinleri açığa çıkarırlar. Bu da mikrovasküler geçirgenlik artışı, ödem, tromboz ve parankimal hücre ölümü ile sonuçlanır (27-28).

Reperfüzyon ile aynı zamanda kompleman sistemi aktive olarak birçok proenflamatuvar mediyatör salınır. En potent mediyatör olan kompleman 5a enflamatuvar cevabı artırarak monosit kemoatraktan protein 1, Tümör nekroz faktör-alfa, interlökin-1 ve interlökin-6 gibi sitokinlerin üretilmesine neden olur.

Kompleman 5b-9 kompleksi ise endotel bağımlı relaksasyon ve endoteliyal siklik guanozin monofosfatı azaltarak vasküler tonusu artırır (29).

2.3 Renal İskemi Reperfüzyon Hasarı

İR hasarına renal duyarlılık fazladır, bunun nedeni yüksek enerji gereksinimi ve karmaşık mikrovasküler ağ yapısıdır.

Akut renal yetmezlik (ARY); saatler-günler içinde renal işlevlerin bozulmasıyla ve glomerüler filtrasyon hızında azalmayla seyreden bir tablodur, sonucunda renal ekskresyon

yeteneğinde bozulma, sıvı ve elektrolit denge bozukluğu ortaya çıkar (1,30). Hipotansiyon, hipovolemi ve dehidratasyona sekonder gelişen hipoperfüzyonun yanı sıra; major kardiyo-torasik, vasküler ve transplant cerrahilerinde İR hasarına bağlı olarak da görülebilir (1-4).

İskemik akut renal yetmezlik, yetersiz kan akımı ile başlar. Yetersiz kan akımı da azalmış kardiyak debi yanında renal arter darlığı veya tıkanıklığı ya da intrarenal küçük damarların ateroskleroz, ateroemboli, vaskülit gibi nedenlerle hasarlanması sonucu gelişir (31).

Vazodilatör maddelerin etkisine karşı iskemik renal dokular dirençli iken, vazokonstriktör maddelerin etkisine karşı da aşırı duyarlıdır. Oksijenlenmenin bozulması ile artan intrasellüler Ca^{+2}, afferent arteriollerde direnç artışına neden olur (32).

Normal şartlarda oksijen basıncı korteksten medullaya inildikçe azalır. Renal İR hasarı öncelikle hipoksiye duyarlı olan medulladan başlar. Renal kan akımının büyük kısmı renal korteksten geçer ve renal medullanın kanlanmasını sağlayan vazarektaya çok az kan gider. Bu da renal medullayı hipoksiye daha duyarlı hale getirir (32,33). İskemik hasar tübüler disfonksiyona ve Na+ geri emiliminde azalmaya neden olur; böylece distal kısımlara giden Na+ miktarı artar, glomerüler vazokonstriksiyon ve glomerüler filtrasyonda azalmaya sebep olan tübüloglomerüler feedback denilen refleksin aktifleşmesine neden olur. Medüller hipoksi ayrıca hücresel enerji depolarının azalmasına, endotel ve düz kas hücrelerindeki aktin hücre iskeletinin bozulmasına yol açar. Bunların sonucunda hücresel şişme meydana gelir ve çevre dokularda hipoksik etkilenme artar (34).

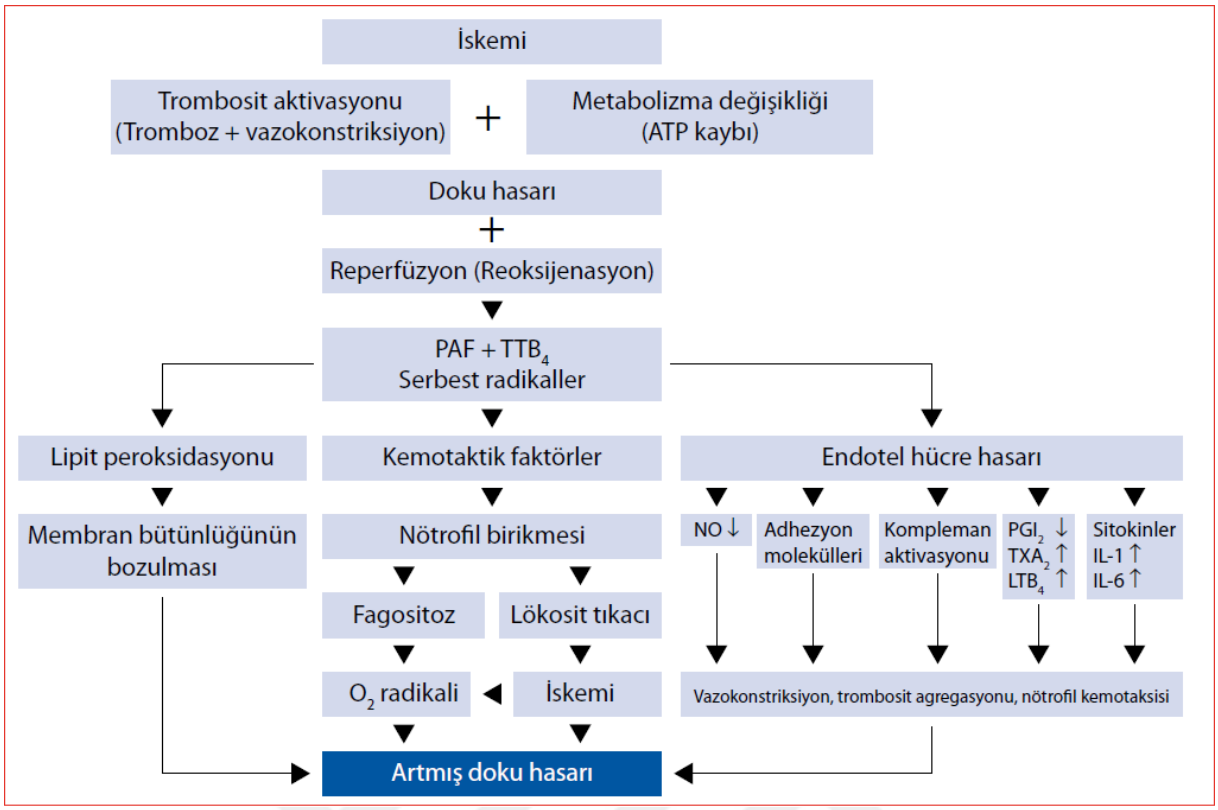
Renal hasarın bir sonucu olan tübüler hücre apoptozisi renal İR patofizyolojisine primer ve major bir katkıda bulunur. Renal İR hasarında enflamasyon ve apoptozis bir arada bulunmaktadır. Hipoksi sırasında intrasellüler Ca^{+2} birikimine bağlı kaspaz aktivitesi artar. Kaspaz iskemik dokuda aktive olur ve iskemik hücre ölümünün bir göstergesidir (35). İskemik renal hasar sırasında spektrin ve ankirin gibi aktin bağlayıcı proteinler bazolateral membrandan sitoplazmaya yönelir, sonrasında da bu proteinlerin yıkımı artar. Tübüler hücrelerde izlenen bu değişiklikler proksimal tübül hücrelerinin fırçamsı kenarlarının kaybına, hücrelerin bazal membrandan koparak tübül lümenine dökülmesine ve tübül lümeninde tıkanmaya sebep olur (32,34). Oksidatif stres de İR hasarında rol oynayan diğer bir hasar

mekanizmasıdır. Tübül hücrelerinin metabolik açıdan yoğun olmaları nedeniyle İR hasarında mitokondriyal hasar ve intrasitoplazmik Ca^{+2} artar, buna bağlı olarak da oksidatif moleküller fazla miktarda oluşur (32-34).

Preglomerüler vazokonstriksiyon glomerüler filtrasyon hızı(GFH)nın azalmasındaki en önemli nedendir. Nörohumoral cevabın uyarılması ile renin anjiyotensin aldosteron sistemi aktive olur ve vazopressin salgılanması artar. Glomerüler plazma akımı % 30-50 oranında azalır. Katekolaminler, anjiyotensin II ve endotelin seviyesi artar, bu artış da vazokonstriksiyon gelişimine yol açar (32).

Reperfüzyon sırasında kan akımında % 40-50 oranında azalma görülür. Kan akımındaki bu azalma tam açıklanamamakla birlikte endojen vazokonstriktörlere karşı antagonistler kullanıldığı zaman kan akımının düzeldiği bildirilmiştir. Gelişen interstisyel ödem medulladaki damarlara bası uygulayarak kan akımını bozabilir. Bu durum lökositlerin endotel hücreleri ile karşılaşma olasılığını artırır. Eritrositler ve lökositlerin medullada biriktikleri deney hayvanlarında gösterilmiştir (3,32,36,37). Ayrıca renal İR hasarına maruz bırakılan hayvanlarda azalmış GFH'ye glomerüllerde biriken fibrin depozitleri de katkıda bulunur (38,39).

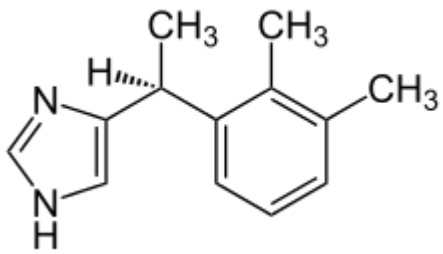
Reperfüzyon sonrası artmış lökosit endotel adezyonu, platelet-lökosit agregasyonu ve azalmış endotel bağımlı relaksasyon mekanik olarak kan akımını azaltabilir (no reflow fenomeni). Bu klinik olarak transplante greft veya reperfüze olmuş miyokard iskemisinde devam eden organ disfonksiyonu ile ilişkilidir (40,41).



Şekil 3: İR hasarında meydana gelen olaylar dizisi(ATP:adenozin trifosfat, PAF:platelet aktive edici faktör, PGI:prostoglandin I, TXA_2:tromboksan A_2, LTB_4:lökotrien B_4, IL:interlökin, NO:nitrik oksit).

2.4 Deksmedetomidin

Deksmedetomidin, medetomidinin D-dimeridir, güçlü bir alfa-2 adrenoreseptör agonistidir (42). Medetomidin, klasik alfa-2 agonistlerine göre daha yüksek alfa-2/alfa-1 selektivite oranına sahiptir. Deksmedetomidin solunum depresyonu yapmayan, anksiyolitik, hipnotik, sedatif, analjezik ve anesteziye destek özellikleri olan bir ajandır (43).



Şekil 4: Deksmedetomidinin yapısal formülü.

Alfa–2 adrenoreseptörler santral sinir sistemi, periferik sinirler (somatik ve otonomik) ve otonom ganglionlarda bulunurlar. Daha çok sempatik afferentlerle innerve olan dokular olmak üzere tüm vücutta dağılmışlardır. Postsinaptik alfa–2 adrenoreseptörler, ayrıca vasküler düz kas gibi effektör organlarda da bulunurlar. İnsanlarda, farelerde, sıçanlarda alfa-2A, alfa-2B, alfa-2C olarak bilinen 3 alt grup bulunmuştur (44-46). Bu 3 alt grup reseptör proteinlerinde 7 kat membran segmentli, G protein bağlantılı reseptörlerdir (46,47). Hücresel düzeyde her 3 alt grup da G1/G0 sinyal sistemi ile bağlantılıdır. Adenilat siklaz aktivitesini ve siklik AMP sentezini inhibe eder. Voltaja duyarlı Ca^{+2} kanallarını inhibe ve K^{+} kanallarını hiperpolarize ederler (42,48). Sinir sistemindeki reseptörlerin uyarılması ile hipotansiyon, bradikardi, sedasyon ve analjezi oluşur, diğer organlarda ise salivasyon ve sekresyonda azalma, barsak motilitesinde azalma, renin salınımında inhibisyon, glomerüler filtrasyonda artma, renal Na^{+} ve su sekresyonunda artma meydana gelir (49).

Deksmedetomidinin organ koruyucu etkileri beyin, kalp ve renal hasarda araştırılmıştır (50-53). İskemik ve toksik enflamatuvar yanıt modellerinde yapılmış sınırlı sayıdaki çalışmada, deksmedetomidinin antienflamatuvar etkinlik gösterdiği ve iskemiye karşı koruyucu olduğu belirtilmiştir (54).

Alfa-2 reseptörleri renal parankimal, distal tübüller ve peritübüler vasküler yapılardayaygın olarak bulunur (55). Alfa-2 reseptör agonistleri klinik olarak perioperatif renalfonksiyonu ve üriner akımı iyileştirir (56,57).

Hayvan çalışmalarında alfa-2 adrenoreseptör agonistlerinin renal koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (52,56,57,59,60). Deksmedetomidinin üriner outputu artırdığı, idrar osmolalitesini azaltarak prerenal antidiüretik cevabı geri döndürdüğü saptanmıştır (61). Deksmedetomidinin renal hasarı önleyici mekanizması kesinlik kazanmamakla birlikte renal noradrenalin salınımının azalmış olması, strese bağlı olarak artan dolaşımdaki noradrenalin düzeylerinin düşmesi ile sağlanan glomerüler filtrasyon ve renal kan akımındaki düzelmenin etkili olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir.

Deksmedetomidin cerrahi sırasında uygulandığında plazma katekolamin düzeylerini düşürmekte, hemodinamik stabilite sağlamakta ve idrar debisini artırmaktadır (61-65).

2.5 Diyabetes Mellitus

Diyabetes mellitus (DM); hiperglisemi, dislipidemi, glikozüri ve metabolik bozukluklarla seyreden, sık görülen ve giderek artan kronik metabolik bir hastalıktır (66,67).

Günümüzde DM birçok gelişmiş ve gelişmekte olan ülkede epidemik bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Genetik, çevresel, davranışsal, sosyoekonomik ve kültürel faktörlerin eklenmesi DM prevelansında artışın sebepleri arasındadır (69). Ülkemizde yapılan birçalışmada DM prevalansı 2002 yılında % 7,2 iken aynı çalışmanın 2010 yılındaki prevelansı % 13.7 olarak saptanmıştır (69,70). Başka bir çalışmada ise DM prevelansında yıllık %5 artış saptanmıştır (71).

Diyabetes mellitus, akut ve kronik komplikasyonlarla seyreder. Uzun süreli diyabet kapillerleri, arteriyolleri yapan vasküler hücreleri ve bazal membranları etkileyerek tüm damarların yapısını bozar. Tüm mikrovasküler yapılar etkilenmesine karşın klinikte retina, renal glomerül ve büyük sinirlerdeki patolojiler ile ortaya çıkar (72).

Diyabetes mellitusun akut ve kronik komplikasyonları gruplar halinde aşağıda gösterilmiştir (73):

Akut Komplikasyonlar:
1. Diyabetik ketoasidoz
2. Hiperosmolar hiperglisemik sendrom
3. Laktik asidoz
4. Hipoglisemi

Kronik Komplikasyonlar:
Makrovasküler komplikasyonlar
a. Diyabetik kalp hastalığı
b. Periferik arter hastalığı
c. Serebrovasküler hastalık

Mikrovasküler komplikasyonlar
a. Diyabetik nöropati
b. Diyabetik nefropati
c. Diyabetik retinopati

Diğer komplikasyonlar
a. Diyabetik ayak
b. Diyabetik gastroenteropati

Diyabetik nefropati DM'li hastalarda önemli bir mortalite nedenidir. Gelişmiş ülkelerde diyaliz ünitelerinde tedavi gören son dönem renal yetmezlik hastalarının üçte birini diyabetikler oluşturur. Bu gelişmiş ülkelerdeki son dönem renal yetmezliğin en sık nedeninin diabetik nefropati olduğu anlamına gelir. Avrupa ve Amerika'da Tip 1 diyabetli hastaların %30-50'sinde, Tip 2 diyabetiklerin %5-15'inde diyabetik nefropati gelişir (74). Diyabetik renal etki ile ilk etapta diffüz, daha sonra da eksüdatif lezyon gelişir. Arteriyollerde hyalinizasyon olur. Efferent arteriyolde oluşan hyalinizasyon diyabete özgü histopatolojik lezyondur. Diyabetik süreçte diffüz ve nodüler interkapiller glomerüloskleroz (Kimmelstiel-Wilson sendromu) dışında renal papilla nekrozu, kronik piyelonefrit, aterosklerotik renal arter darlığı, toksik nefropati gibi nedenlere bağlı olarak da renal tutulum görülebilir.

Diyabetik nefropati gelişim süreci Mogensen'in tanımladığı beş evreden geçer:

Evre 1: Hiperfiltrasyon ve hipertrofi evresi: Hiperfiltrasyon: Glomerüler filtrasyon hızı %20-40 artabilir ve egzersiz sırasında belirgin üriner albümin ekskresyon artışı ile karakterizedir. Renal hipertrofi ultrasonografi ile de gösterilebilir. Bu dönemdeki değişikliklerin renal kan akımı ve filtrasyon yüzeyinin artmasından kaynaklandığı, glomerüler bazal membranda hafif kalınlaşma dışında önemli bir morfolojik değişiklik olmadığı ortaya konulmuştur. Normogliseminin sağlanması ile birlikte nefropati daha ileri klinik evrelere geçmeden geriler (75).

Evre 2: Sessiz dönem: Klinik bulgu yoktur. Ama morfolojik değişiklikler yıllar boyu sessiz bir şekilde gelişir. Glomerüler filtrasyon hızı yavaşça azalarak normal sınırlara iner. Egzersiz sırasında belirgin üriner albümin ekskresyonu devam eder. Glomerüler bazal membranda kalınlaşma ve magnezyumda sınırlı ekspansiyondan ibaret morfolojik değişiklikler renal biyopsi ile gösterilebilir. Birçok hasta bu evreden 3. evreye geçmez. İyi glisemi kontrolü ile düzelme gözlenebilir (75).

Evre 3: Başlangıç halinde diyabetik nefropati dönemi (Mikroalbüminürik evre): Bu dönemde GFH normaldir. Üriner albümin ekskresyonu mikroalbümürik düzeyde, yani 30-300mg/24saat veya 20-200 mg/dk arasındadır. Aşikar nefropatinin habercisidir. Hematüri, konjestif kalp yetmezliği, egzersiz, aşırı protein alımı, ateş, kontrolsüz diyabet ve üriner sistem infeksiyonu mikroalbüminüri pozitifliğini artırır (8,75).

Evre 4: Klinik diyabetik nefropati dönemi: Klasik olarak persistan nefropati (0,5 gr/gün) ile karakterizedir. Beraberinde sıklıkla hipertansiyon da vardır ve eğer hipertansiyon

tedavi edilmez ise renal fonksiyon kaybı hızlanır. Morfolojik olarak renal glomerüllerde skleroz da izlenmeye başlanır (9,75).

Evre 5: Son dönem renal yetmezlik: Üremi gelişmesi ile birlikte, sıvı retansiyonu, ödem gibi diğer komplikasyonlar da görülmeye başlar. Yaşlı hastalarda kalp yetersizliği ile birlikte otonom ve periferik nöropati görülür. Kan basıncını kontrol etmek güçleşir. Hemen hepsinde büyük damar kalsifikasyonları (Mönckeberg sklerozu) gelişir. Koronovasküler hastalık en sık ölüm nedenidir. Glomerüler FH 15- 20 ml/dk' nin altına indiğinde renal replasman programına alınmalıdır (10,75).

Diyabetik sıçanlarda yapılan deneysel çalışmalarda nondiyabetik sıçanlara göre daha hızlı bir şekilde renal disfonksiyon geliştiği bildirilmiştir (76). Diyabetes mellitus, radyo-kontrast nefropati ya da kardiyopulmoner bypass sonrası gibi akut renal hasarın gelişiminde bir risk faktörü olarak tanımlanmış, gerek klinik gerekse deneysel modellerde akut renal hasarlanma eğilimini artırdığı birçok yayında tanımlanmıştır (77,78). Bununla birlikte, DM'de renal iskemiye yatkınlığı artıran mekanizmalar henüz kesin olarak bilinmemektedir (76).

2.6 Nötrofil İlişkili Lipokalin (NGAL)

Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada, özellikle akut renal hasarda, erken, tanısal bir biyomarkır olan NGAL, ilk olarak nötrofillerin jelatinazına bağlı bir protein olarak belirlenmiştir (79-82).

Lipokalin süper ailesinin bir üyesidir (83). Lipokalinler fıçı şeklinde tersiyer yapıya sahiptirler, ortak yapı: sekiz zincirli, hidrojen bağlı fıçı yapısı ve bir internal ligand bağlama yüzeyi içerir. Küçük hidrofobik moleküllere ve özel hücre yüzey reseptörlerine bağlanabilme, çözünebilir makromoleküller ile kompleksler oluşturabilme lipokalinlerin ortak moleküler özellikleridir. Nötrofil ilişkili lipokalin, ilk başlarda nötrofil lizozomlarında bulunması ile karakterize iken, daha sonra renal tübüler epitelyum, kolon, prostat, meme gibi dokulardan da eksprese edilmiştir (84).

Nötrofil ilişkili lipokalin stres altındaki hücreden sentezlenir. Enfeksiyon, inflamasyon, iskemi, neoplastik transformasyon NGAL ekpresyonunun arttığı durumlardır (85). Plazmada serbest veya tip IV kollagenaz ile kompleks halinde bulunabilir (86). Düşük molekül ağırlığı nedeniyle kolayca idrarda saptanır (87).

Akut renal fonksiyon bozukluğu durumunun son aşaması ARY'dir. Yetmezlik tanımlaması kreatinin yüksekliğinden anüri ve replasman tedavisine kadar uzanan geniş bir tanımlamadır. Yetmezlik kavramı hasarlanmanın erken dönemlerini ifade edememektedir, bu nedenle akut renal hasar terimi kullanıma girmiştir (88). Postoperatif renal fonksiyon bozukluğuna bağlı komplikasyonlar özellikle kardiyak cerrahi sonrası başlıca mortalite nedenidir (89,90). Renal hastalıklarda erken tanı açısından bakıldığında belirteçler açısından son yıllara kadar fakir kalınmıştır. Renal hasarda oluşan hızlı fonksiyon kaybının saptanma zamanı ile mortalite gelişimi arasında önemli derecede korelasyon saptanması ve mevcut biyokimyasal parametrelerin erken tanı ve derecelendirmedeki bazı yetersizlikleri nedeniyle son yıllarda yeni biyobelirteçlere olan ihtiyaç artmıştır (91). Bu konuda verilebilecek en çarpıcı örnek, glomerüler fonksiyon hızındaki düşüşün kreatinin yükselmesinden çok daha önce başlaması ve yetmezlik tanısında en yaygın kullanılan belirteç olan kreatinin düzeylerinde yükseklik saptandığında renal fonksiyonlarda önemli ölçüde fonksiyon kaybının başlamış olmasıdır (92). Renal hasarın erken saptanması belki de sendromun tanımlamasından daha önemlidir. Bu amaçla birçok araştırmacı iskemik hayvan modellerinde ve insanlarda genomik yaklaşımlar ve biyoinformatik tekniklerin kombinasyonuyla birçok genin ekspresyon profillerini incelemiştir. Bu konuda akut renal hasar için yeni biyobelirteçlerden beklentiler hasarın lokalizasyonu (proksimal tübül, distal tübül, interstisyum, vasküler yapılar gibi), süresi (akut, kronik), prerenal, renal veya postrenal ayrımı, etiyoloji ayrımı (iskemi, toksin, sepsis) akut renal hasarı diğer renal hastalıklarından ayırma, risk ve prognoz belirleme ve hasara yönelik girişimlerin monitörizasyonudur. Analitik beklentiler ise, non- invaziv ve kolayca elde edilen kan veya idrar örneğinde, yatak başında veya standart klinik laboratuvarlarda uygulanabilir, yüksek duyarlılıkta olup erken teşhisi kolaylaştırmasıdır (91). Bu beklentilerin çoğunu karşılayan NGAL geni, akut iskemik ve nefrotoksik hasar sonrası kreatininden önce kısa sürede en fazla eksprese olan gen olarak gösterilmiştir. Nötrofil ilişkili lipokalin üretimi renal epitelyum hasarı veya inflamasyonuna cevap olarak hızla artmaktadır. Akut renal hasar sonrasında kanda ve idrarda NGAL proteini kolaylıkla tespit edilmiştir. Eksperimental olarak akut tübüler hasar sonrası renal NGAL mRNA'sının 1000 kat arttığı; Western- blotting teknikle akut renal hasarda plazmada 10, idrarda 100 kattan fazla artış gösterdiği gösterilmiştir (92).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı (Ek 1) alındıktan sonra Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Çalışmada ağırlıkları 250-300 g arasında değişen 40adet *Wistar* albino cinsi erişkin erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar araştırma başlangıcına kadar oda sıcaklığında (21-22 ^{o}C) % 40-60 nisbi nemde 12 saat aydınlık - 12 saat karanlık ortamda tutulup standart pellet yemi ve suyla beslendi. Herhangi bir yem ve su kısıtlamasına gidilmedi.

3.1 Diyabet modeli

Tip I diyabet modeli oluşturmak için 45 mg/kg STZ tek doz şeklinde i.p. yolla uygulandı. Streptozosin 0.1 M fosfat-sitrat tamponunda (pH:4.5) hazırlandı, diyabet modeli oluşturulmayan kontrol sham grubunu oluşturan sıçanlara da eşit hacimde tampon i.p. enjekte edildi. Streptozosin taze olarak hazırlanıp, hemen uygulandı. Bu şekilde yapılan uygulamayı takiben 3 gün sonra, kuyruk kanından kan örneği alındı. Alınan örnekte glikometre ile bakılan kan şekeri > 250 mg/dL olan sıçanlar diyabetik kabul edildi. Bu model daha önceki deneysel diyabet modeli çalışmalarından örnek alındı (93). Sıçanlar bir ay boyunca deney hayvanları laboratuvarında izlendikten sonra çalışmaya başlandı.

3.2 Anestezi Uygulaması

Streptozotosin uygulamasından 1 ay sonrası sıçanlarda anestezi i.p. 50 mg/kg ketamin (Ketalar flk., *Pfizer Pharma GMBH, Germany*) ve 5-10 mg/kg arası ksilazin hidroklorid (Alfazyne % 2, *Alfasan International, Holland*) ile sağlandı. Gerektiğinde sıçanların anestezi derinliğini sabit tutmak için ketamin (yarı dozda, 25 mg/kg) refleks yanıtlara (pensetle ayağa ağrılı uyaran verilmesi-pedal refleks, palpebral ve korneal refleksler) bakılarak tekrarlandı.

3.3 Deney Grupları ve Protokol

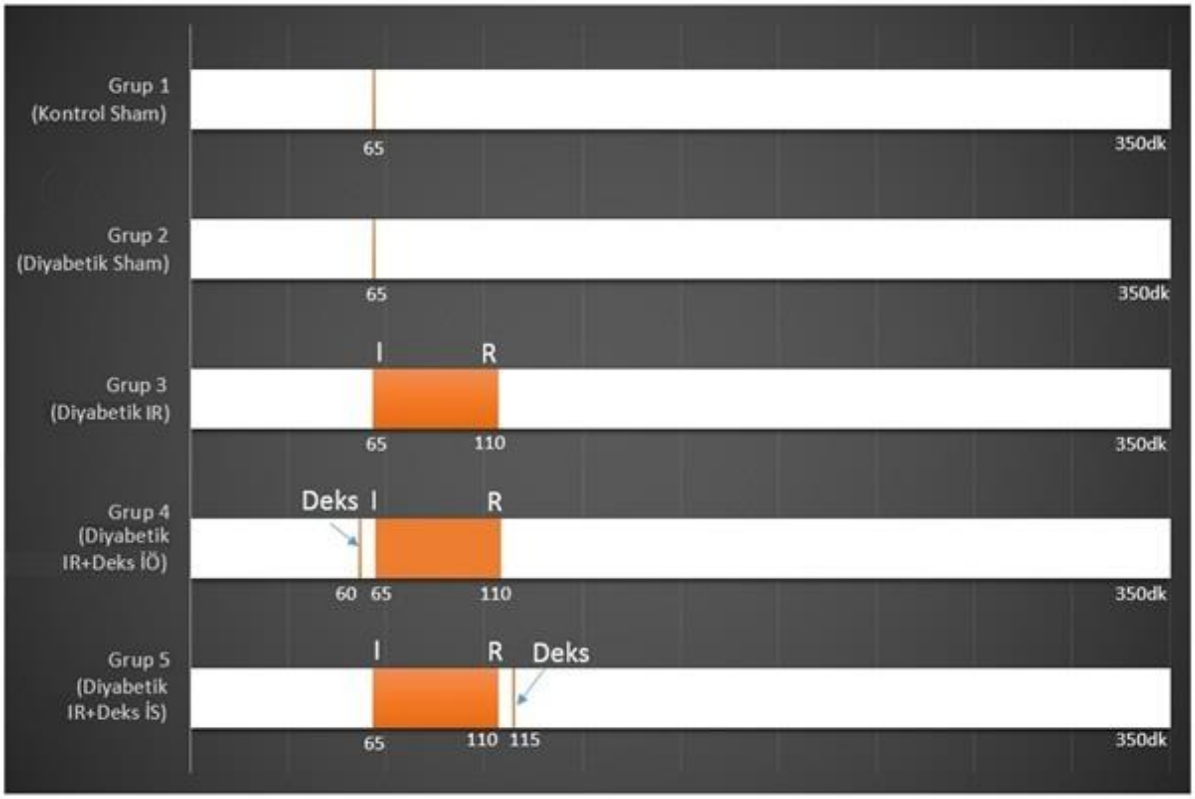
Grup I (Kontrol Sham,n=7): Diyabetik olmayan sıçanlarda, laparotomi sonrası anestezinin 65. dk.'sinde sol ve sağ renal pedikül açığa çıkarıldı. Başka bir girişim yapılmadan sıçanlar 350 dk. anestezi altında bekletildi.

Grup II (Diyabetik Sham, n=7): Diyabetik sıçanlarda, laparotomi sonrası anestezinin 65. dk.'sinde sol ve sağ renal pedikül açığa çıkarıldı. Başka bir girişim yapılmadan sıçanlar 350 dk. anestezi altında bekletildi.

Grup III (Diyabetik İR, n=7): Diyabetik sıçanlarda, Grup I'deki gibi laparotomi sonrası anestezinin 65. dk.'sinde sol ve sağ renal pedikül açığa çıkarılarak her iki pediküle klemp konuldu, 45 dk. iskemi uygulanıp ardından klemp açılarak 4 saat reperfüzyon yapıldı.

Grup IV (DiyabetikİR+Deks - İÖ, n=7): Laparotomi sonrası bilateral renal pedikül diseke edilip klemp konmadan beş dk. önce 100 µg/kg i.p. deksmedetomidin (Precedex 100 µg/2 ml flk., *Abbott Laboratory, Illinois, USA*) verildi. Altmışbeşinci dk.'da sol ve sağ renal pediküle klemp konarak 45 dk. iskemi uygulandıktan sonra klemp açılarak 4 saat reperfüzyon yapıldı.

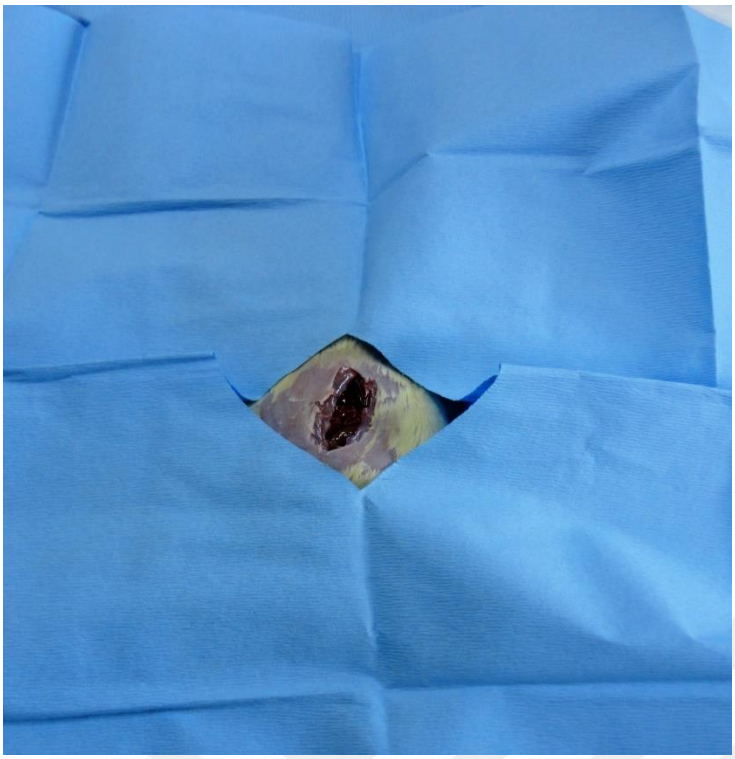
Grup V (DiyabetikİR+Deks - İS, n=7): Laparotomi sonrası anestezinin 65. dk.'sinde sol ve sağ renal pediküle klemp konarak 45 dk. iskemi uygulandı ardından klemp açılarak reperfüzyonun 5. dk'sinde 100 µg/kg ip deksmedetomidin (Precedex 100 µg/2 ml flk., *Abbott Laboratory, Illinois, USA*) verildi ve 4 saat reperfüzyon yapıldı.



Şekil 5: Deney protokolünün şematik görünümü. (İ: İskemi, R: Reperfüzyon, Deks: Deksmedetomidin, İÖ:İskemi Öncesi, İS: İskemi Sonrası)

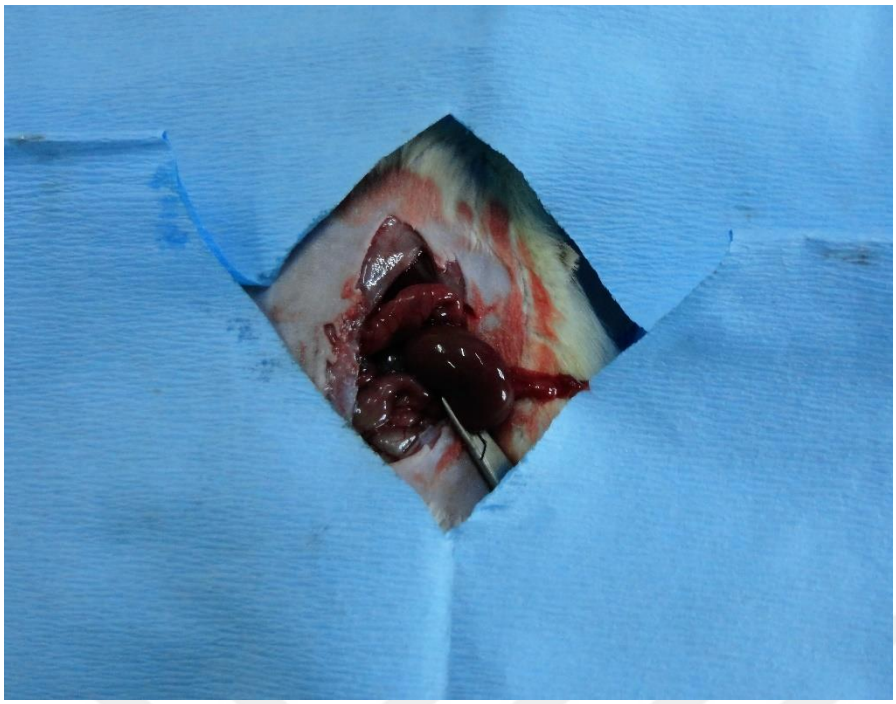
3.4 Deneysel Çalışma Modeli

Tüm sıçanlar anestezi uygulamasından sonra supin pozisyonda operasyon masasına sabitlenerek abdomen orta hat insizyonu ile açıldı.



Resim1: Anestezi altında laparotomi uygulanması.

Sol ve sağ renaller açığa çıkarıldı ve pediküller diseke edildi. Sıçanları hipotermiden korumak için çalışma süresince operasyon masası ısıtıcı bir lamba ile ısıtıldı ve rektal prob ile ölçülen vücut sıcaklığı 37-37,5 ºC arasında tutuldu. Dehidratasyonu önlemek amacıyla subkutan serum fizyolojik solüsyonu saat başı 3 ml/kg dozda uygulandı. Bekleme süreleri boyunca batın ıslak steril tamponlar ve cerrahi pens ile kapatıldı. Çalışma boyunca sıçanların normotermik kalması için, çalışma ortamının sıcaklığı ısıtıcı bir lamba ile korundu.



Resim2: Renal pediküllerin açığa çıkarılması.

Grup 1 dahil tüm hayvanlara anestezi uygulanarak laparotomi yapıldı, histopatolojik inceleme için sol nefrektomi uygulandı, biyokimyasal testler için kardiyak ponksiyon ile tüm kanları alındı, aynı zamanda bu yöntemle çalışma sonlandırılıp sıçanların eksanguinasyon ile sakrifiye edilmesi sağlandı.

3.5 Renal iskemi reperfüzyon modeli

Sol ve sağ renal total iskemisi; atravmatik klemp ile renal pediküller sıkıştırılarak oluşturuldu. Yeterli oklüzyon pediküllerde pulsasyon olmaması ve renal solukluk oluşması ile doğrulandı. İskemi süresi tamamlandıktan sonra klempler serbestleştirilip reperfüzyon sağlandı.

3.6 Biyokimyasal Değerlendirme

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı' nda üre, kreatinin, NGAL düzeyleri reperfüzyondan sonra 4.saattebakıldı. Plazma NGAL (*Rat lipocalin-2/NGAL ELİSA KIT, Boster Biological Technology,* EnglandİngiltereEngiltere), KÜN ve kreatinin parametrelerinin çalışılması için elde edilen kan örnekleri hemogram tüplerine aktarılarak

1500XG'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra plazma örnekleri -70 C'de analize kadar saklandı. Numuneler Architect C 16000 otoanalizörü (*Abbott, USA*) ve bunun orijinal kiti kullanılarak çalışıldı.

3.7 Renal dokunun histomorfolojik değerlendirilmesi

Histomorfolojik inceleme için ratlardan elde edilen renal dokuları %10'luk tamponlu formaldehid solüsyonunda fikse edildikten sonra fiksatifin uzaklaştırılması amacıyla bir gece akarsu altında yıkandı. Dehidratasyon için sırasıyla %70, %80 ve %96'lık etil alkol serilerinde 20'şer dakika; ardından üç farklı aseton serisinde 20'şer dakika tutuldu. Şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki farklı ksilene tabi tutulduktan sonra birer saatlik iki kez parafin ile immersiyonu sağlandı. Daha sonra dokular parafin bloklar içerisine gömüldü. Rotary mikrotom (*RM 2255, Leica*) aracılığı ile 5 μm'lik (Feather S35 mikrotom bıçağı) parafin kesitler alındı.

Alınan kesitler deparafinizasyon işlemi için 30 dk. 60˚C'lik etüvde bırakıldı. Ardından ilki 20 dk. (etüvde) diğer ikisi 10'ar dakikalık üç farklı ksilene tabi tutuldu. Daha sonra rehidratasyon işlemi için iki değişim absolü alkol ve %96'dan %70'e azalan alkol serilerinden geçiridi, kesitler distle su ile çalkalandıktan sonra 10 dk. Hematoksilen (*01562E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire*) ile boyandı. Boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 10 dk akarsuda yıkanan kesitler, iki dk. Eozin (*01602E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire*) boyası ile boyandı. Boyamadan sonra sırasıyla %70, %80, %96 ve iki seri Absolü alkol serilerinden geçirilen kesitler şeffaflaştırma amacıyla 20'şer dk üç değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (*UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany*) ile kapatıldı.

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

Renal dokuları değerlendirmek için boyanan kesitlerde, farklı büyütmelerde denek başına üç birbiriyle örtüşmeyen renal kesitlerin bulunduğu en az 30 renal alan incelendi.

İskemi reperfüzyon uygulanan renal doku kesitleri ışık mikroskobunda proksimal tübüluslardaki yapısal değişiklikler (tübüler atrofi, tübüler fırçamsı kenar kaybı, vakuolizasyon, tübüler dilatasyon, kast formasyonu), mononükleer hücre (MNH) infiltrasyonu, interstisyel alandaki yapısal değişiklikler, renal korpüskül morfolojisi, nekrotik ve apoptotik hücreler açısından DEÜTF Histoloji ve Embriyoloji AD'da görevli iki histolog tarafından kör olarak değerlendirildi. Kesitlerden elde edilen görüntüler semikantitatif olarak tübülointerstisyel hasar yönünden skorlandı. Skorlama 0 = hiç yok, 1 = % 0-25, 2 = % 26-45, 3 = % 46-75, 4 = % 76-100 olarak uygulandı.

3.8 Dışlama

Resüsitasyon gereksinimi olan sıçanlar çalışma dışı bırakıldı.

3.9 İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme için *Statistical Package of Social Sciences 15* (*SPSS 15.0, Chicago, IL, USA*) programı kullanıldı. Verilen değerler medyan, minimum, maksimum olarak $\pm$1 SD olarak sunuldu. Grupların ikili karşılaştırmaları için *Mann-Whitney U* testi kullanıldı. Ağırlık ve kan glukoz seviyelerindeki dalgalanmayı belirlemek için *Friedman* tekrarlanan ölçümlerine başvuruldu. İstatistiksel olarak $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirilen çalışmaya toplam 40 sıçan dahil edildi. Üç sıçan tip 1 diyabet modeli oluşturulamadığı için iki sıçan deney aşamasında exitus olması nedeniyle çalışmadan çıkarıldı, bu çalışma 35 sıçan ile tamamamlandı.

Tüm gruplardaki sıçanlara ait histopatolojik skor ve biyokimyasal değerlendirmeler Tablo 1 ve Tablo 2 de sunuldu.

Grupların bazal kan glukoz seviyeleri arasında anlamlı fark bulunmadı. Kontrol sham olarak ayrılan diyabetik olmayan birinci grup dışındaki sıçanlarda tip 1 diyabet modeli oluşturuldu (n=30). Modelin gerçekleştiği kan glukoz seviyeleriyle kanıtlandıktan sonra sıçanlar diyabetik sham, diyabetik iskemi reperfüzyon (İR), diyabetik iskemi reperfüzyon öncesi deksmedetomidin (İR+Deks-İÖ) ve diyabetik iskemi reperfüzyon sonrası deksmedetomidin (İR+Deks-İS) olarak 4 gruba ayrıldı.

4.1 Renal histomorfolojik hasar skoru

Proksimal Tübüluslarda Yapısal Değişiklikler

Kontrol sham (0,000±0,000), diyabetik sham (1,143±0,378), diyabetik İR (1,429±0,535), diyabetik İR+Deks-İÖ (1,143±0,378), diyabetik İR+Deks-İS (0,857±0,378) grupları incelendiğinde kontrol sham grubundaki proksimal tübül hasar skoru diğer gruplara göre anlamlı düşük bulundu (sırasıyla, $p<0,001$, $p=0,001$, $p<0.001$, $p=0,002$). Diyabetik İR grubunun hasar skoru diyabetik İR+Deks-İS grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,044$), diyabetik İR+Deks-İÖ grubu ile arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,254$) ancak diyabetik İR grubunun hasar skorları ılımlı olarak yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında belirgin fark saptanmadı.

Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu

Kontrol sham (0,143±0,378), diyabetik sham (0,571±0,535), diyabetik İR (1,286±0,488), diyabetik İR+Deks-İÖ (0,714±0,488), diyabetikİR+Deks-İS (0,714±0,488) grupları incelendiğinde kontrol sham grubu histomorfolojik hasar skorları diyabetik İR, diyabetik İR+Deks-İÖ, diyabetik İR+Deks-İS gruplarından anlamlı olarak düşük bulundu (sırasıyla $p=0,002$, $p=0,037$, $p=0,037$). Kontrol sham ve diyabetik sham grubu arasında

anlamlı fark saptanmadı ancak diyabetik sham grubunda bu hasar skorları ılımlı olarak daha yüksekti. Diyabetik sham grubu skorları diyabetik İR grubundan anlamlı olarak düşük bulundu (p=0,030), diyabetik İR grubu diyabetik İR+Deks-İÖ ve diyabetik İR+Deks-İS grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı (p=0,054, p=0,054) ancak diyabetik İR grubunda bu hasar skorları ılımlı olarak daha yüksekti.

Kapiller Vazodilatasyon

Kontrol sham (0,286±0,488), diyabetik sham (0,429±0,535), diyabetik İR (0,857±0,690), diyabetik İR+Deks-İÖ (0,429±0,488), diyabetik İR+Deks-İS (0,286±0,488) grupları incelendiğinde grupların histomorfolojik hasar skorları arasında anlamlı fark saptanmadı. Diyabetik İR grubunun hasar skoru diğer gruplardan ılımlı olarak yüksekti.

Total Hücre Hasar Skorları

Kontrol sham (0,000±0,000), diyabetik sham (1,000±0,000), diyabetik İR (1,429±0,534), diyabetik İR+Deks-İÖ (1,143±0,378), diyabetik İR+Deks-İS (0,857±0,378) grupları incelendiğinde kontrol sham grubu histomorfolojik total hücre hasar skorları diyabetik sham, diyabetik İR, diyabetik İR+Deks-İÖ, diyabetik İR+Deks-İS grup skorlarından anlamlı olarak düşük bulundu (sırasıyla p<0,001, p=0,001, p<0,001, p=0,002). Diyabetik sham grup skorları ile diayebtik İR (p=0,060), diabetik İR+Deks-İÖ (p=0,317), diyabetik İR+Deks-İS (p=0,317) grup skorları arasında anlamlı fark saptanmadı, fakat diyabetik İR grubu diyabetik İR+Deks-İS grubu ile karşılaştırıldığında diyabetik İR+Deks-İS skorları anlamlı olarak düşük saptandı (p=0,044). Diyabetik İR+Deks-İS ve diyabetik İR+Deks-İÖ grupları arasında anlamlı fark saptanmadı ancak diyabetik İR grubu hasar skorları diyabetik İR+Deks-İÖ grubundan ılımlı yüksekti.

Tablo1: Grupların histopatolojik skorları. (Değerler ortalama ±SD,median, minimum ve maksimum olarak sunuldu).

Grouplar	**Proksimal tübül yapı değişikliği**	**Mononükleer hücre infiltrasyonu**	**Kapiller vazodilatasyon**	**Total hücre hasar skoru**
Group I (n=7)	0.000±0.000 0.0 0.0-0.0	0.143±0.378 0.0 0.0-1.0	0.286±0.488 0.0 0.0-1.0	0.000±0.000 0.0 0.0-0.0
Group II (n=7)	1.143±0.378 1.0 1.0-2.0	0.571±0.535 1.0 0.0-1.0	0.429±0.535 0.0 0.0-1.0	1.000±0.000 1.0 1.0-1.0
Group III (n=7)	1.429±0.535 1.0 1.0-2.0	1.286±0.488 1.0 1.0-2.0	0.857±0.690 1.0 0.0-2.0	1.429±0.534 1.0 1.0-2.0
Group IV (n=7)	1.143±0.378 1.0 0.0-1.0	0.714±0.488 1.0 0.0-1.0	0.429±0.488 1.0 0.0-1.0	1.143±0.378 1.0 1.0-2.0
Group V (n=7)	0.857±0.378 1.0 0.0-1.0	0.714±0.488 1.0 0.0-1.0	0.286±0.488 0.0 0.0-1.0	0.857±0.378 1.0 0.0-1.0
p değerleri				
P_{12}	**<0.001**	0.107	0.591	**<0.001**
P_{13}	**0.001**	**0.002**	0.100	**0.001**
P_{14}	**<0.001**	**0.037**	0.591	**<0.001**
P_{15}	**0.002**	**0.037**	1.000	**0.002**
P_{23}	0.254	**0.030**	0.225	0.060
P_{24}	1.000	0.591	1.000	0.317
P_{25}	0.173	0.591	0.591	0.317
P_{34}	0.254	0.054	0.225	0.254
P_{35}	**0.044**	0.054	0.100	**0.044**
P_{45}	0.173	1.000	0.591	0.173

Grup I : Kontrol sham

Grup II: Diyabetik sham

Grup III: Diyabetik iskemi reperfüzyon (İR)

Grup IV: Diyabetik iskemi reperfüzyon öncesi deksmedetomidin (İR+Deks-İÖ)

Grup V: Diyabetik iskemi reperfüzyon sonrası deksmedetomidin (İR+Deks-İS).

Grupların ikili karşılaştırmaları için *Mann-Whitney U* testi kullanıldı.

P_{12}: Kontrol sham ile diyabetik sham grubunun karşılaştırılması

P_{13}: Kontrol sham ile diyabetik iskemi reperfüzyon grubunun karşılaştırılması

P_{14}: Kontrol sham ile diyabetik iskemi reperfüzyon öncesi deksmedetomidin grubunun karşılaştırılması

P_{15}: Kontrol sham ile diyabetik iskemi reperfüzyon sonrası deksmedetomidin grubunun karşılaştırılması

P_{23}: Diyabetik sham ile diyabetik iskemi reperfüzyon grubunun karşılaştırılması

P_{24}: Diyabetik sham ile diyabetik iskemi repefüzyon öncesi deksmedetomidin grubunun karşılaştırılması

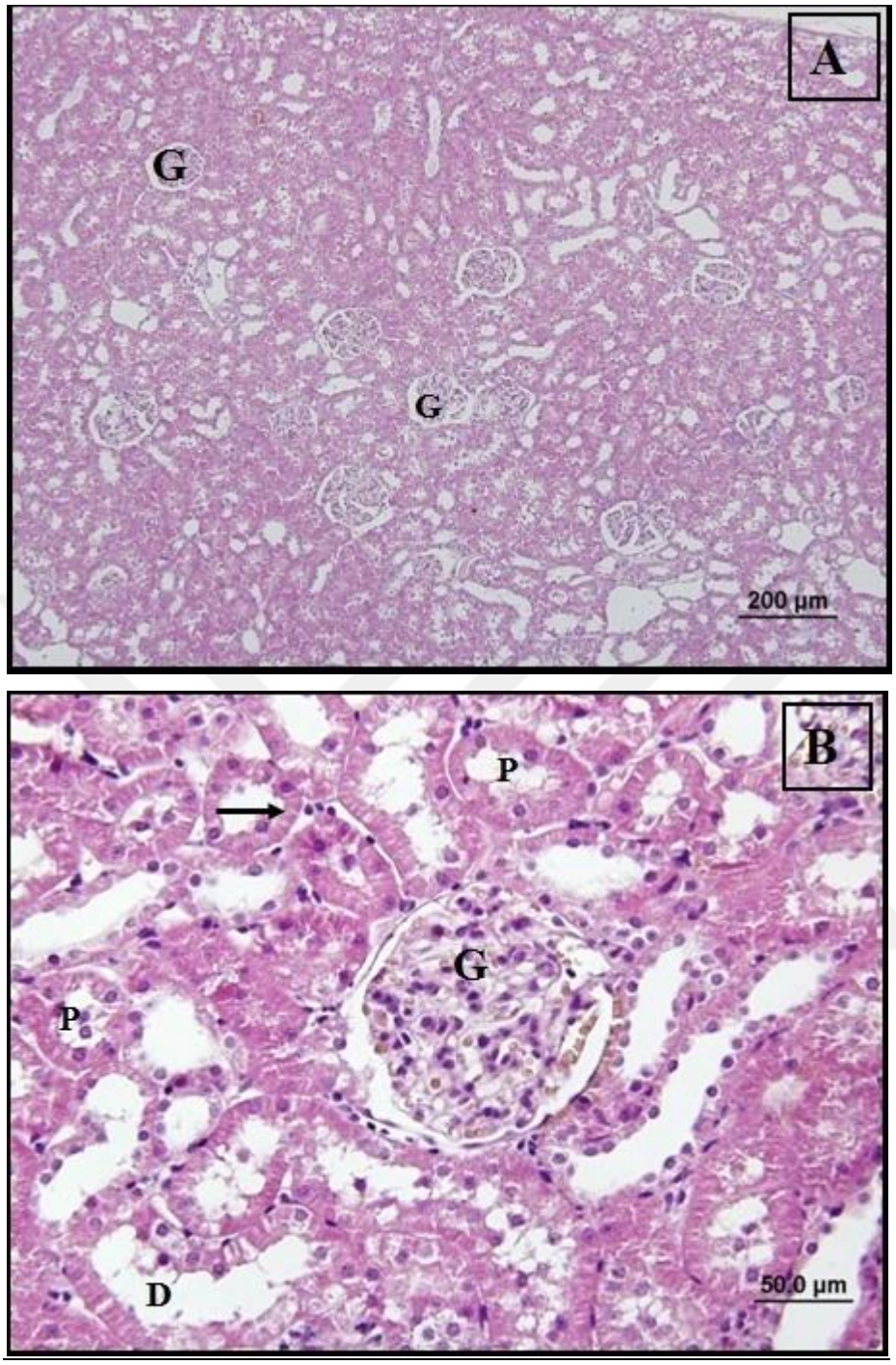
P_{25}: Diyabetik sham ile diyabetik iskemi reperfüzyon sonrası deksmedetomidin grubunun karşılaştırılması

P_{34}: Diyabetik iskemi reperfüzyon ile diyabetik iskemi reperfüzyon öncesi deksmedetomidin grubunun karşılaştırılması

P_{35}: Diyabetik iskemi reperfüzyon ile diyabetik iskemi reperfüzyon sonrası deksmedetomidin grubunun karşılaştırılması

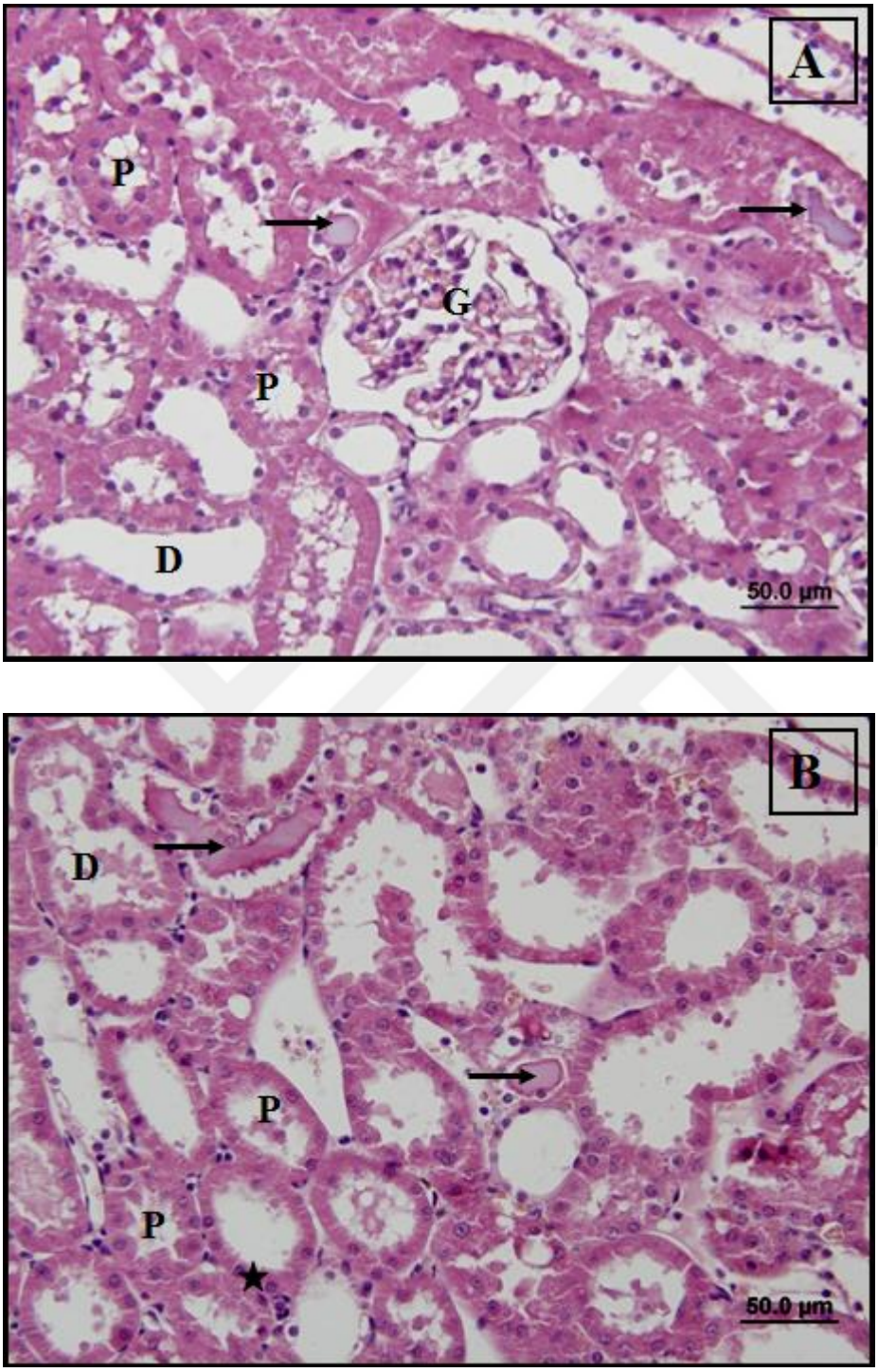
P_{45}: Diyabetik iskemi reperfüzyon öncesi deksmedetomidin ile diyabetik iskemi reperfüzyon sonrası deksmedetomidin grubunun karşılaştırılması

Kontrol Sham grubuna ait renal kesitler incelendiğinde, korteksin dışında fibröz kapsülün sağlam olarak bulunduğu, kortekstеki renal korpüsküllerin normal yapıda olduğu, bowman kapsülünün pariyetal ve visseral yaprağının normal histolojik yapıda olduğu belirlendi. Proksimal tübül ve distal tübül, henle kulbu, kollektör tübüllerin yapılarının normal olduğu gözlendi. Epitel hücreleri karakteristik yapı ve özelliklerini korumaktaydı (Resim 3A-B).



Resim 3A-3B: Sham grubuna ait kesitler. G:glomerül, P:proksimal tübül, D:distal tübül, (➡):fırçamsı kenar

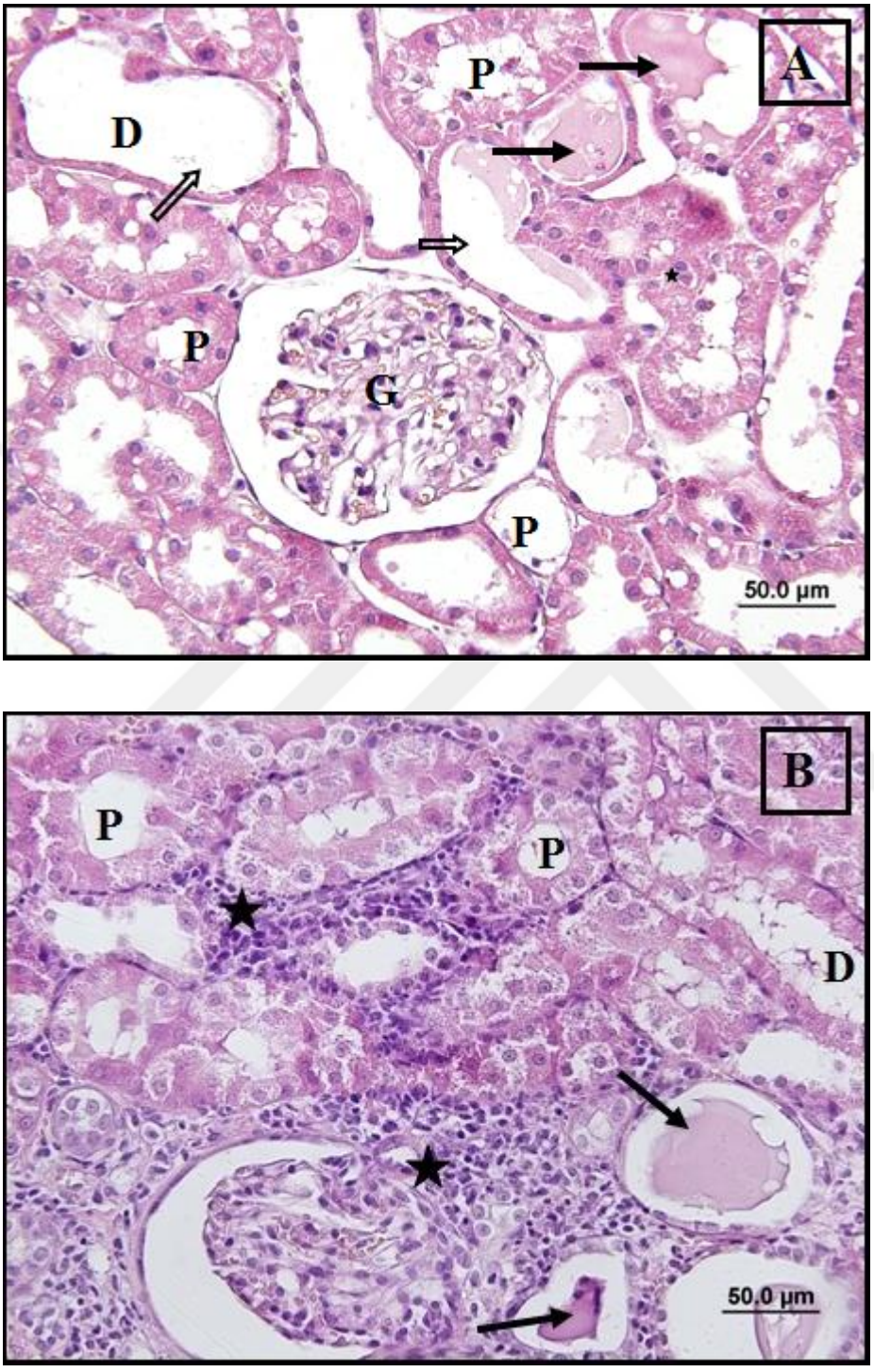
Diyabetik Sham grubuna ait renal kesitleri incelendiğinde, mononükleer hücre infiltrasyonu ve eritrosit ekstravazasyonunun çok fazla gözlenmediği, renal korpüsküllerin morfolojilerinin normal olduğu, ancak tübüllerde özellikle bazı deneklerin proksimal tübül lümenlerinde proteinöz madde birikimi dikkati çekti (Resim 4A-B).



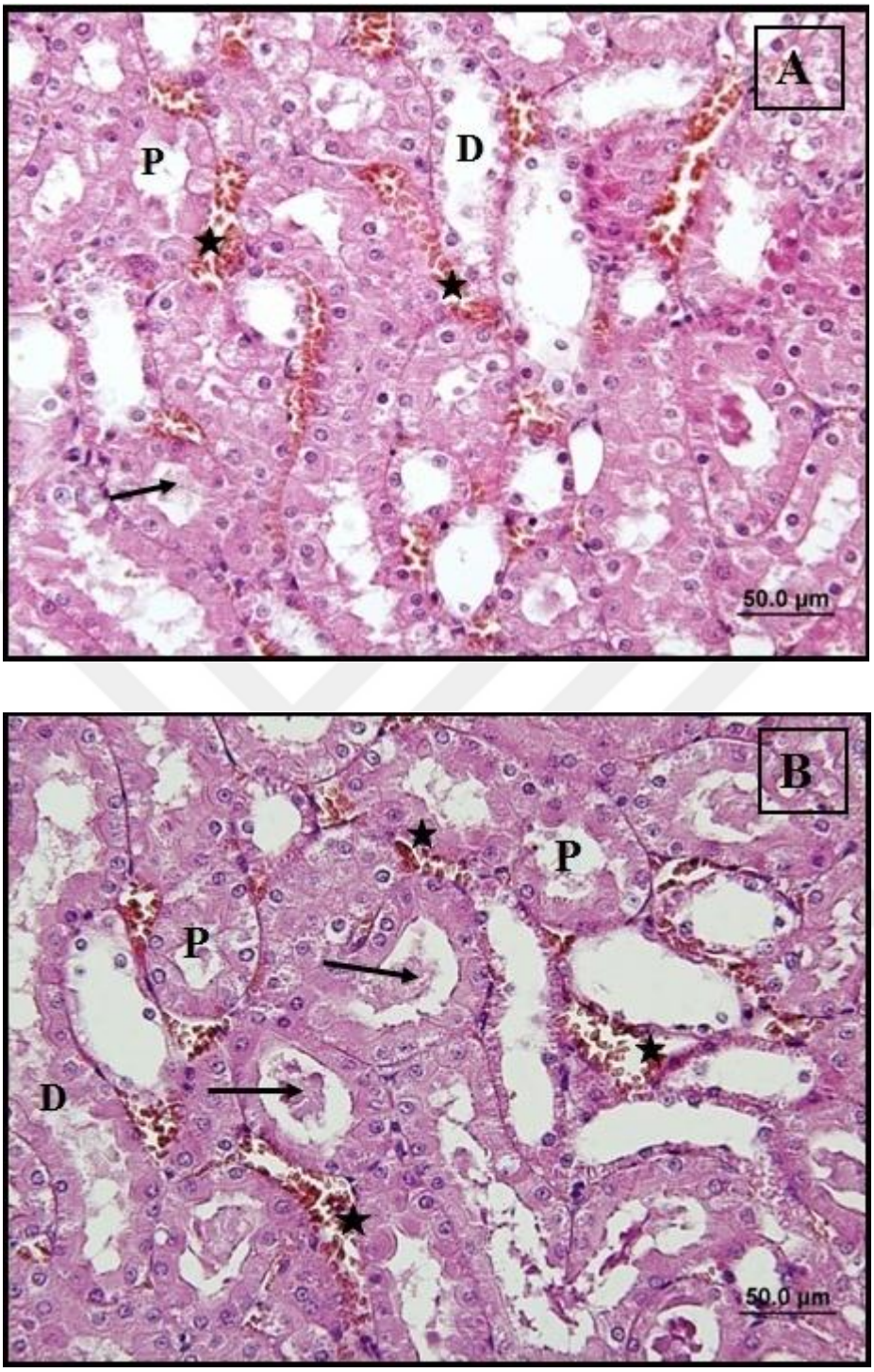
Resim 4A-4B: Diyabetik Sham grubuna ait kesitler: G:glomerül, P:proksimal tübül, D:distal tübül , (➡):tübül lümeninde hyalin madde birikimi,(★) mononükleer hücre infiltrasyonu.

Diyabetik İskemi Reperfüzyon grubuna ait renal kesitler incelendiğinde, renal korpüsküllerin morfolojilerinin normal olduğu, parankimada mononükleer hücre infiltrasyonu

ve eritrosit ekstravazasyonunun gözlendiği, özellikle tübüler dilatasyonla beraber tübüllerin lümenlerinde proteinöz madde birikiminin olduğu dikkati çekti (Resim 5A-B,6A-B).

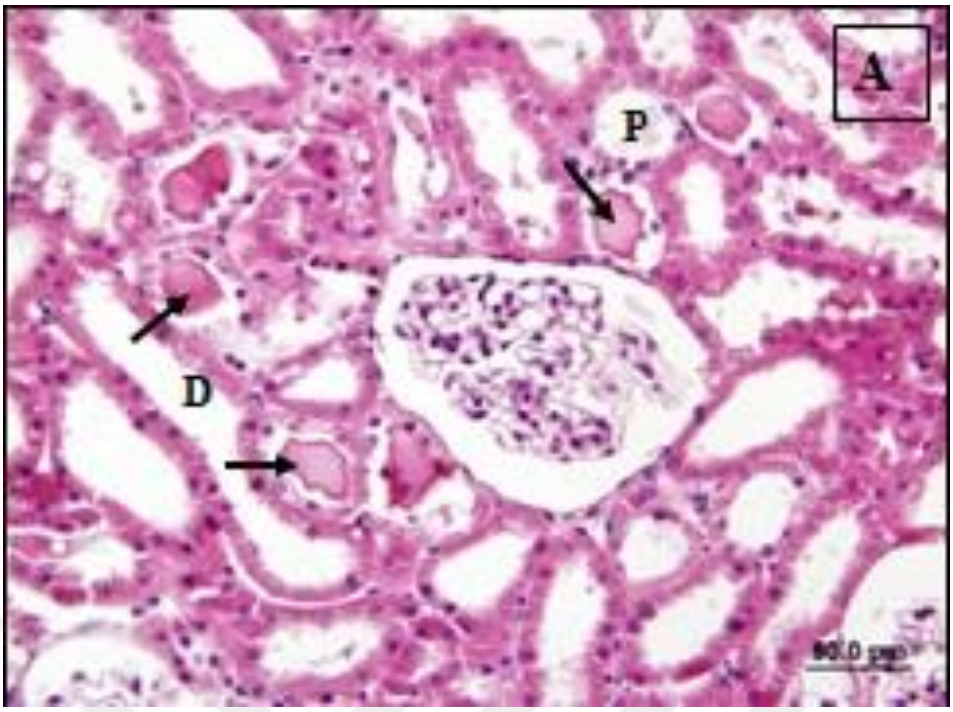


Resim 5A-B:Diyabetik iskemi reperfüzyon grubuna ait kesitler: G:glomerül, P:proksimal tübül, D:distal tübül, (➡): tübüllerde proteinöz madde birikimi, (★):parankimada mononükleer hücre infiltrasyonu, (⇨):tübüllerde dilatasyon.

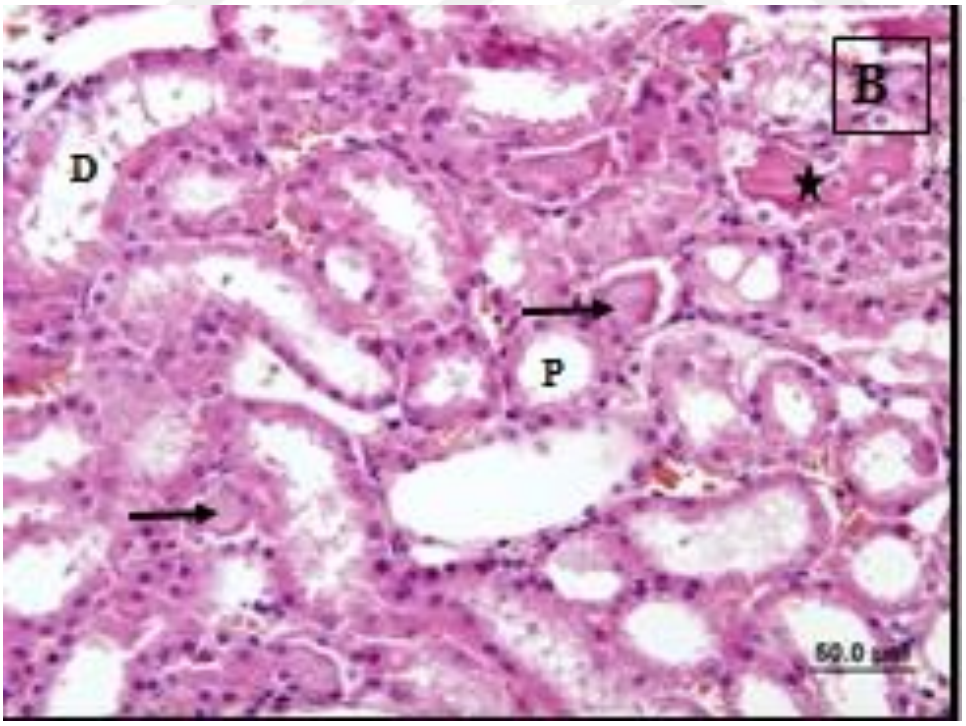


Resim 6A-B: Diyabetik iskemi reperfüzyon grubuna ait kesimler:G:glomerül, P:proksimal tübül, D:distal tübül, (➡):tübüllerde proteinöz madde birikimi,(★) eritrosit ekstravazasyonu.

Diyabetik iskemi reperfüzyon öncesi deksmedetomidin grubuna ait renal kesitler incelendiğinde, renal korpüsküllerin morfolojilerinin normal olduğu, iskemi reperfüzyon grubuna göre parankimada mononükleer hücre infiltrasyonu ve eritrosit ekstravazasyonunun azaldığı, iskemi reperfüzyon grubunda gözlenen tübüler dilatasyon ve tübüllerin lümenlerinde proteinöz madde birikiminin azaldığı dikkati çekti (Resim 7A-B).

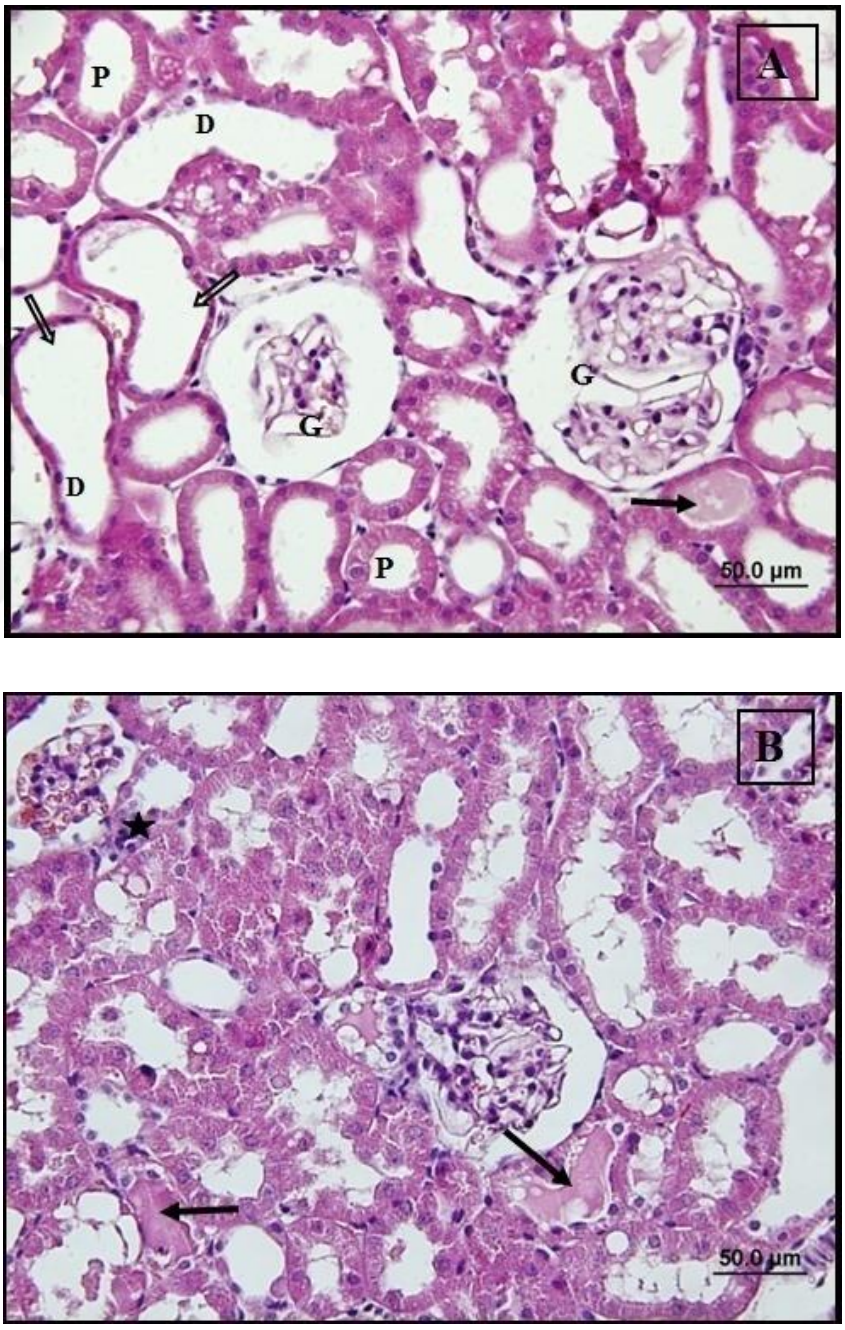


Resim 7A: Diyabetik iskemi reperfüzyon öncesi deksmedetomidin grubuna ait kesitler:G:glomerül, P:proksimal tübül, D:distal tübül,(➡): tübüllerde proteinöz madde birikimi.



Resim 7B: Diyabetik iskemi reperfüzyon öncesi deksmedetomidin grubuna ait kesitler.G:glomerül, P:proksimal tübül, D:distal tübül,(➡) tübüllerde proteinöz madde birikimi,(★) bazı deneklerde tübüllerde dejenerasyon.

Diyabetik iskemi reperfüzyon sonrası deksmedetomidin grubuna ait kesitlerde ise, İR grubuna göre özellikle peritübüler alanda mononükleer hücre infiltrasyonunda, tübüler değişikliklerde ve kortekste eritrosit ekstravazasyonunda azalma gözlendi. İR grubunda tübüler dejenerasyon, tübüler dilatasyon,mononükleer hücre infiltrasyonu, eritrosit ekstravazasyonu ve tübüllerde proteinöz madde birikiminın İR+Deks -İS grubunda, İR+Deks -İÖ grubuna göre daha az oranda olduğu gözlendi (Resim 8A-B).



Resim 8A-B: Diyabetik iskemi reperfüzyon sonrası deksmedetomidin grubuna ait kesitler. G:glomerül, P:proksimal tübül, D:distal tübül, (➡):tübüllerde proteinöz madde birikimi,(★):mononükleer hücre infiltrasyonu, (⇨):tübüllerde dilatasyonun diğer gruplara göre azalmış olduğu görünüm.

4.2 Biyokimyasal Bulgular

Kontrol sham, diyabetik sham, diyabetik İR, diyabetik İR+Deks-İÖ, diyabetik İR+Deks-İS grupları incelendiğinde; kontrol sham grubu KÜN seviyeleri diyabetik sham, diyabetik İR, diyabetik İR+Deks-İÖ, diyabetik İR+Deks-İS gruplarından anlamlı olarak düşük saptandı (sırasıyla p=0,018, p=0,003, p=0,002, p=0,002). Diyabetik sham grubu KÜN seviyeleri diyabetik İR, diyabetikİR+Deks-İÖ, diyabetik İR+Deks-İS gruplarından anlamlı olarak düşük saptandı (sırasıyla p=0,025, p=0,004, p=0,002). Diyabetik İR grubu KÜN seviyeleri diyabetik İR+Deks-İS grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük saptanırken (p=0,041), diyabetik İR+Deks-İÖ ve diyabetik İR+Deks-İS grupları karşılaştırıldığında KÜN seviyeleri arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,064).

Kreatinin seviyeleri kontrol sham grubunda diğer gruplarla kıyaslandığında anlamlı olarak düşük saptandı (sırasıyla p=0,012, p=0,02, p=0,03, p=0,02), diyabetik sham grubu kreatinin seviyeleri diyabetik İR ve diyabetik İR+Deks-İS grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük bulunurken (sırasıyla p=0,015, p=0,002), diyabetik İR+Deks-İÖ ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı (p=0,179). Diyabetik İR+Deks-İÖ ile diyabetik İR+Deks-İS grubu kıyaslandığında ise kreatinin seviyeleri diyabetik İR+Deks-İS grubunda anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,009).

Nötrofil ilişkili lipokalin seviyeleri için gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Biyokimyasal parametreler Tablo2' de sunuldu.

Tablo 2: Grupların 4 saatlik reperfüzyon sonrası biyokimyasal parametreleri; kan üre nitrojeni, kreatinin, serum nötrofil ilişkili lipokalin seviyeleri sunuldu.

Groups	**KÜN**	**Kreatinin**	**NGAL**
Group I (n=7)	22.814±4.441 22.1 17.00-31.50	0.233±0.046 0.21 0.18-0.31	365.570±83.188 391.0 241.0-440.0
Group II (n=7)	37.429±10.830 39.5 21.60-53.10	0.363±0.099 0.38 0.22-0.48	309.71±87.874 277.0 235.0-456.0
Group III (n=7)	56.000±14.619 59.700 29.90-71.70	0.613±0.209 0.58 0.38-0.93	364.571±70.460 406.0 239.0-456.0
Group IV (n=7)	61.00±9.078 57.80 51.60-75.60	0.476±0.149 0.43 0.28-0.67	394.143±71.934 406.00 239.0-456.0
Group V (n=7)	71.328±9.049 71.70 61.20-84.50	0.814±0.271 0.75 0.51-1.36	466.000±367.627 363.00 238.0-1288.0
p değerleri			
P_{12}	**0.018**	**0.012**	0.337
P_{13}	**0.003**	**0.002**	0.749
P_{14}	**0.002**	**0.003**	0.405
P_{15}	**0.002**	**0.002**	0.654
P_{23}	**0.025**	**0.015**	0.277
P_{24}	**0.004**	0.179	0.159
P_{25}	**0.002**	**0.002**	0.225
P_{34}	0.565	0.225	0.223
P_{35}	**0.041**	0.180	0.609
P_{45}	0.064	**0.009**	0.249

(KÜN: kan üre nitrojeni, NGAL: nötrofil ilişkili lipokalin)

GrupI : Kontrol sham

Grup II: Diyabetik sham

Grup III: Diyabetik iskemi reperfüzyon (İR)

Grup IV: Diyabetik iskemi reperfüzyon öncesi deksmedetomidin (İR+Deks-İÖ)

Grup V: Diyabetik iskemi reperfüzyon sonrası deksmedetomidin (İR+Deks-İS).

Grupların ikili karşılaştırmaları için *Mann-Whitney U* testi kullanıldı.

$P_{12:}$ Kontrol sham ile diyabetik sham grubunun karşılaştırılması

$P_{13:}$ Kontrol sham ile diyabetik iskemi reperfüzyon grubunun karşılaştırılması

$P_{14:}$ Kontrol sham ile diyabetik iskemi reperfüzyon öncesi deksmedetomidin grubunun karşılaştırılması

$P_{15:}$ Kontrol sham ile diyabetik iskemi reperfüzyon sonrası deksmedetomidin grubunun karşılaştırılması

$P_{23:}$ Diyabetik sham ile diyabetik iskemi reperfüzyon grubunun karşılaştırılması

$P_{24:}$ Diyabetik sham ile diyabetik iskemi repefüzyon öncesi deksmedetomidin grubunun karşılaştırılması

$P_{25:}$ Diyabetik sham ile diyabetik iskemi reperfüzyon sonrası deksmedetomidin grubunun karşılaştırılması

$P_{34:}$ Diyabetik iskemi reperfüzyon ile diyabetik iskemi reperfüzyon öncesi deksmedetomidin grubunun karşılaştırılması

$P_{35:}$ Diyabetik iskemi reperfüzyon ile diyabetik iskemi reperfüzyon sonrası deksmedetomidin grubunun karşılaştırılması

$P_{45:}$ Diyabetik iskemi reperfüzyon öncesi deksmedetomidin ile sonrası deksmedetomidin grubunun karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın sonuçlarına göre diyabetin asıl renal etkileri özellikle proksimal tübül hasarıyla (proteinöz madde birikimi) kendisini göstermiş, buna bağlı olarak da total hücre hasar skorlarında histopatolojik olarak anlamlı bir azalma meydana gelmiştir. Diyabetik sıçanlara iskemi reperfüzyon hasarının eklenmesi renal hasarın düzeyini artırmış proksimal tübül hasarının yanı sıra renal mononükleer hücre infiltrasyonuna neden olmuştur. Diyabetik sıçan renal iskemi reperfüzyon modelinde deksmedetomidinin iskemi sonrası uygulanması bu hasarın önlenmesinde iskemi öncesi uygulamaya kıyasla histopatolojik hasar skorlarında daha etkin bulunmuş olsa da bu çalışma ile deksmedetomidinin diyabetes mellitusda etkin ve tam bir koruma sağladığı gösterilememiştir.

İskemi, bir dokuya gelen kan akımının çeşitli nedenlerle azalması veya kesilmesi durumudur. Dokuda kan akımının yeniden başlaması ise reperfüzyon olarak isimlendirilir. İskemide kalmış bir organ ya da dokunun tekrar kanlanmasının sağlanması durumunda daha fazla hasar oluşmaktadır, bu durum İR hasarı olarak tanımlanmaktadır (94). Klinik pratikte renal İR hasarı renal transplantasyon, parsiyel nefrektomi ve aortik kros klemp uygulaması gibi renal kan akımının geçici olarak durduğu veya dolaşım kollapsına neden olan şok gibi sistemik hipoperfüzyonun geliştiği durumlarda görülmektedir (4). Renal İR hasarının altta yatan mekanizması kompleks bir tablo olup ATP tüketimi, intrasellüler Ca^{+2}ve serbest oksijen radikallerinin birikimi, mitokondriyal disfonksiyon, birçok litik enzim sistem aktivasyonu ve pro-inflamatuvar sitokin üretimini içerir (95-97).

Renal İR hasarı deneysel olarak iki farklı metod kullanılarak oluşturulabilir. Bunlardan biri tek taraflı nefrektomi ve karşı taraf renal arter yada renal pedikül klemplenmesi ile diğeri ise bilateral renal pedikül yada renal arterlerin klemplenmesi ile yapılmaktadır. İskemi reperfüzyon metodu kadar renal iskemi süresi de çok önemli olup genellikle 30 ile 60 dakika arasında sınırlandırılır. Altmış dakikadan fazla olan bir renal iskemi süresi akut tubüler nekroza ve renal yetmezliğe neden olabilir. Renal iskemi süresi 30 dakikadan kısa olduğunda ise tübüler epitel hücrelerinin hızlı proliferasyonu ile hasarlanmış renal tübülleri onarılabilir ve buna renal fonksiyonların iyileşmesi eşlik edebilir (5,98,99). Literatürde 45 dakikalık renal iskemi süresinin yeterli İR hasar bulgusuna neden olabileceği gösterilmiştir (100). Bu nedenle bu çalışmada da iskemi süresi 45 dakika olarak uygulandı.

Williams ve ark (99) renal İR hasarının etkilerini 45 dk.'lık iskemiyi takiben reperfüzyonun 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 9 ve 24. saatler ile 1 hafta sonrasındaki kan ve doku

örneklerinde araştırmışlardır. Bu çalışmacılara göre renal İR hasarının etkileri en erken 4. saatte başlamakta ve 24. saatte de pik yapmaktadır. Gönüllü ve ark (6) 60 dk renal iskemi ve 24 saat reperfüzyon uyguladıkları sıçan renal İR modellerinde, İR'a ait renal tübüler hasar bulgusu yanı sıra KÜN ve kreatinin düzeylerinde de anlamlı artışla seyreden renal fonksiyonlarındaki bozulmayı göstermişlerdir.

Renal İR hasarını önlemek veya tedavi etmek amacıyla uygulanan yöntemlerden biri olan deksmedetomidinin İR hasarındaki olumlu etkileri daha önce yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir (5-7). Deksmedetomidinin renal hasarı önleyici mekanizması kesinlik kazanmamakla birlikte renal noradrenalin salınımının azalmış olması, strese bağlı olarak dolaşımdaki artan noradrenalin düzeylerinin düşmesi ile sağlanan glomerüler filtrasyon ve renal kan akımınındaki düzelmenin etkili olduğu gösterilmiştir. Deksmedetomidin cerrahi sırasında uygulandığında katekolamin plazma düzeylerini düşürmekte, hemodinamik stabilite sağlamakta ve üriner outputu artırmaktadır. Böylece endokrin-metabolik yanıta bağlı oluşan renal değişiklikler de azalmış olmaktadır (61-65).

Billings ve ark (51)'nın yaptığı çalışmada, klonidin ve deksmedetomidinin İR yanı sıra renal yetmezliğe sıklıkla yol açan diğer bir neden olan radyokontrast injeksiyonundan sonra gelişen renal kan akımındaki azalmayı düzelttiği ve nefropati gelişimini azalttığı gösterilmiştir. Sugita ve ark(101)'nın yaptığı çalışmada deksmedetomidinin 10-20 µg/kg/sa'lik infüzyonunun renal fonksiyon bozukluğunu azalttığı, renal İR hasarı tarafından indüklenen nitrik oksit sentetazı, messenger RNA ve intrasellüler adezyon molekül-1 artışını suprese ettiği gösterilmiştir. Si ve ark (102) deksmedetomidinin renal İR hasarından koruyuculuğunun Janus Kinaz (JAK-STAT) yolağını inhibe ederek gerçekleştiğini, bu nedenle perioperatif olarak IR hasarının önlenmesinde ve tedavisinde kullanabileceğini belirtmiştir. Gönüllü ve ark (6)'nın yaptığı çalışmada deksmedetomidin 100 µg/kg dozunda intraperitoneal olarak iskemiden 5 dak öncesi veya reperfüzyondan 5 dak sonrası uygulanmış ve deksmedetomidinin hem iskemi öncesi hem de reperfüzyon sonrası uygulamasının 24.saatindeki histopatolojik hasar skorlarını anlamlı olarak azalttığı gösterilerek İR hasarındaki olumlu etkileri rapor edilmiştir. Bağcık ve ark (7) ise, sıçan renal İR modelinde deksmedetomidini hem tek başına hem de UİÖK ile birlikte uygulamışlardır. Bağcık ve ark (7)'nın bu çalışmasında deksmedetomidinin hem tek başına hem de UİÖK ile birlikte uygulanması tama yakın bir renal koruma sağlamıştır. Her iki grupta da İR hasarına kıyasla anlamlı olarak renal mononükleer hücre infiltrasyonunun, glomerülotübüler değişikliklerin ve total hasar skorlarının azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca, bu çalışmacılar apoptozisin göstergesi

olarak aktif kaspaz-3 immunreaktivitesini de değerlendirdikleri çalışmalarında, UİÖK ile birlikte uygulanan deksmedetomidin grubunda aktif kaspaz 3 immunreaktivisindeki anlamlı azalma ile İR hasarında önemli bir yolak olan apopitozisin bu iki farklı uygulamanın birlikteliği ile önlenebileceğini saptamışlardır.

Diyabetes mellitus sık görülen ve giderek artan kronik metabolik bir hastalıktır. Diyabetik sıçanlarda yapılan deneysel çalışmalarda nondiyabetik sıçanlara göre daha hızlı bir şekilde renal disfonksiyon geliştiği bildirilmiştir (76). Diyabetes mellitus, radyo-kontrast nefropati ya da kardiyopulmoner bypass sonrası gibi akut renal hasar gelişiminde bir risk faktörü olarak tanımlanmış, gerek klinik gerekse deneysel modellerde akut renal hasarlanma eğilimini artırdığı literatürde tanımlanmıştır (77,78). Bu çalışmada tip I diyabet modeli oluşturmak üzere Güneli ve ark (93)'larının çalışmasından örnek alınarak 45 mg/kg STZ tek doz şeklinde ip yolla uygulandı. Uygulamayı takiben 3 gün sonra, kuyruk kanından alınan örnekte glikometre ile bakılan kan şekeri > 250 mg/dL olan sıçanlar diyabetik kabul edildi. Dört hafta diyabetin kronik etkilerinin oluşması için beklendi. Bu çalışmada diyabetik sham grubundaki proksimal hücre hasar skorları nondiyabetik sıçanlara (kontrol sham) göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Renal korpüskül morfolojilerinin normal olduğu diyabetik sham grubunda tübüllerde özellikle proksimal tübül lümenlerinde dikkat çekici proteinöz madde birikimi olduğu gözlendi. Bu gruptaki sıçanlarda KÜN ve kreatinin seviyelerinde de anlamlı artış ile diyabetin renal fonksiyonlar üzerindeki etkisi gösterildi.

Abu Saleh ve ark (78), STZ ile indüklenen diabetik sıçan modelinde 30 dk.renal iskemi sonrasında hem diyabetik hemde nondiyabetik sıçanlarda histolojik değişiklikler tespit etmişler, diyabetik iskemik renal medulla iç kesitinde konjesyon ve inflamasyon dahil tüm patolojik parametreleri, morfolojik skora göre 2.5 kat daha yüksek bulduklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise, hem diyabetik sham hem de diyabetik İR grubunda proksimal tübül hasarında diyabetik olmayan gruba göre anlamlı artış saptanmıştır. İskemi reperfüzyon hasarı ile birlikte mononükleer hücre infiltrasyonu ve eritrosit ekstravazasyonu gözlenmiş, tübüler dilatasyon yanı sıra tübül lümenlerinde proteinöz madde birikimi olmuştur. Bununla birlikte, her ne kadar diyabetik İR grubunda tüm hasar skorlarının diyabetik sham grubuna kıyasla artmış olduğu saptanmış olsa da istatistiksel olarak anlamlı fark yalnızca mononükleer hücre infiltrasyonunda bulunmuştur.

Fouad ve ark (98) da yaptıkları çalışmalarında bizim sonuçlarımıza benzer şekilde diyabetik İR grubunda özellikle proksimal tübüllerde olmak üzere dilatasyon ve vakuoler dejenerasyon ile yaygın nekroz olduğunu göstermişlerdir.

Yayınlanan literatürlerde yaptığımız taramada Kip G ve ark (103)'nın diyabetik sıçanlarda myokardial İR'nun uzak organ (akciğer), Zeng X ve ark (104)'nın da geçici global serebral İR hasarında deksmedetomidinin etkilerini araştırdıkları çalışmalar dışında diyabetik sıçan renal İR hasarında deksmedetomidinin etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlayamadık. Bu nedenle, çalışmamızda, diyabetik olmayan sıçan renal İR hasarında 100 μg/kg dozunda ip yolla uygulanan ve koruyucu etkileri gösterilen deksmedetomidinin diyabetik sıçanlardaki İR modelinde yine iskemi öncesi ve reperfüzyon sonrası uygulanarak erken dönemdeki etkilerinin gerek histopatolojik gerekse renal fonksiyonları ile irdelenmesini amaçladık. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, reperfüzyon başlangıcında uygulanan deksmedetomidin ile IR grubuna göre özellikle peritübüler alanda mononükleer hücre infiltrasyonu ve kortekteki eritrosit ekstravazasyonunun azalmış olduğu, iskemi öncesi deksmedetomidin uygulanan gruba kıyasla da tübüler dejenerasyon, tübüler dilatasyon ve tübüllerde proteinöz madde birikiminin daha az olduğu saptandı. Renal İR hasarını önleyici yöntemlerin akut bir oksidan faktör olan geçici hiperglisemideki etkileri ile ilgili sonuçlar hala kesin değildir. Günümüze dek, literatürde birçok çalışmada renal İR hasarının etkilerini önlemeye yönelik kullanılan farmakolojik ve nonfarmakolojik yöntemlerin olumlu etkilerinin geçici akut hiperglisemi ile ortadan kalktığı bildirilirken (105-109) çok az çalışmada hipergliseminin renal koruyucu etkiyi önlemediği rapor edilmiştir (110). Daha önceki çalışmalarda izofluran, propofol, melatonin ve UİÖK'nın renal koruyucu etkilerinin geçici hiperglisemi ile ortadan kalktığı gösterilmiştir (107,108,109). Benzer şekilde Wang H ve ark (109) da sıçan renal IR hasarında deksmedetomidinin akut hiperglisemideki etkilerini çalışmışlardır. Bu çalışmacılar daha düşük dozda (50 μg/kg ip) ve sadece iskemi öncesi uygulanan deksmedetomidinin IR'daki olumlu etkilerinin akut hiperglisemi ile ortadan kalktığını bildirmişlerdir. İskemi sürelerinin 45 dakikanın altında tutulduğu bu çalışmalardan sadece eritropoetinin düşük (600 Ü/kg) ve yüksek (5000 Ü/kg) dozda uygulandığı Caetano ve ark (110)'nın çalışmasında eritropoetinin geçici hiperglisemik olan sıçanlarda tubuler nekrozu önlemediği ancak apoptozisi azalttığı ve glomerüler fonksiyonları iyileştirdiği gösterilmiştir.

Günümüze dek, diyabetik sıçan renal İR hasarında hem hasarı önlemek hem de tedavi etmek amacıyla farmakolojik ve nonfarmakolojik birçok yöntem uygulanmıştır (111-113). Bu yöntemlerin sıçan renal İR hasarındaki etkileri oldukça değişken olup bazı yöntemler ile

geçici hiperglisemide olduğu gibi olumsuz sonuçlar daha da artabilmektedir. Özbilgin ve ark (113) diyabetik sıçan renal İR modelinde nonfarmakolojik bir yöntem olan lokal iskemik önkoşullama (LİÖK)'nın diyabetik sıçanlarda histomorfolojik değerlendirme sonuçlarına göre İR hasarını azaltma yada korumada etkili olmadığını göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, LİÖK'nın koruyucu bir etki sağlamaması yanısıra bu gruptaki deneklerde proksimal tübüllerde mononüklear hücre infiltrasyonu, kapiller vazodilatasyon ve striktürel değişikliklerdeki histolojik skor değerleri diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuş, bu da renal İR hasarına LİÖK'nın daha da olumsuz etki yaptığı görüşüne neden olmuştur. Ayrıca, histopatolojik bulgularla uyumlu olarak KÜN, kreatinin ve NGAL olmak üzere 3 biyokimyasal parametre ile de diyabetik sıçanlarda LİÖK'nın renal İR hasarında koruyucu bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir.

Diyabetik sıçan renal İR modelinde farmakolojik ajanların etkilerini değerlendiren çalışmalar bulunmaktadır (111,112). Bizim bilgimize göre, diyabetik sıçan renal İR hasarında deksmedetomidin daha önce kullanılmamıştır. Kip ve ark (103) bizim çalışmamızda kullanılan dozda reperfüzyonu takiben uyguladıkları deksmedetomidin ile diyabetik sıçanlarda myokardiyal iskemi sonrası gelişen akciğer hasarının önlendiğini bildirmişlerdir. Xeng X ve ark (104) da 5 μ/kg/sa dozunda 90 dk. süre ile İV olarak uyguladıkları deksmedetomidin ile diyabetik sıçanlarda global serebral İR hasarının anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir. Bu çalışmacılara göre, deksmedetomidin, serebral İR hasarında olumlu etkilerini antiapoptotik protein ekspresyonu ile Bcl-2 up-regülasyonunu sağlayarak ve proapopitotik protein Bax ekspresyonunu inhibe ederek göstermektedir.

Bizim çalışmamızda, reperfüzyon döneminde uygulanan deksmedetomidin ile hem İR hem de iskemi öncesi deksmedetomidin uygulanan gruba kıyasla peritubüler alanda mononükleer hücre infiltrasyonunda, kortekste eritrosit ekstravazasyonunda azalma olsa da sadece proksimal tübül yapı değişikliklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır. Bu sonuçlar bize diyabetik sıçan renal İR hasarında deksmedetomidinin bu dozda sadece tedavi edici olarak uygulandığında histopatolojik olarak kısmi bir renal iyileşme ile etki sağladığını göstermektedir. Oksidan stresin yüksek olduğu diyabetes mellitus gibi bir durumda belki deksmedetomidinin daha yüksek dozda yada infüzyon şeklinde ve daha uzun süreli olarak uygulanması gerekmektedir

Akut renal hasarı göstermede KÜN ve kreatininin yanı sıra son yıllarda erken dönemde oldukça yüksek duyarlı, spesifik ve belirleyici bir markır olarak kabul edilen NGAL

bakılmaya başlanmıştır (114). Serum NGAL düzeyi 30 dk.' lık bilateral renal arter iskemisini takiben 2 saat sonraki kan örneklerinde diğer belirteçlere göre daha erken ve daha yüksek saptanmıştır. Nötrofil ilişlili lipokalin, akut renal hasarı sonrası 2-6 saat içinde hem idrarda hem de serumda saptanabilmektedir. Bu nedenle NGAL'in akut renal hasarını belirlemede duyarlılık ve özgüllüğü en yüksek parametre olduğu öne sürülmektedir (12,115-117). Si ve ark (102)'nın yaptığı çalışmada, renal iskemi belirteci olarak 0. 12. 24. ve 48. saatlerde bakılan kan örneklerinde serum KÜN ve kreatinin değerlerinin 24. saatte artışı saptanırken NGAL'in 12. saatteki kan örneklerinde yüksekliği saptanmıştır. Bununla birlikte, yapılan bir başka çalışmada NGAL' in zayıf bir belirteç olduğu, özellikle sistemik stres varlığında renal hasardan bağımsız olarak ektrarenal üretiminin olabileceği bildirilmektedir (118). Bizim çalışmamızda da NGAL, KÜN ve kreatinin düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Bu sonuçların, kan örneklerinin alındığı dönemle ilgisi olabileceği gibi, NGAL'e özgü olarak NGAL'in strese bağlı ekstrarenal üretimi ile de ilişki olabileceği kanısındayız.

Bu çalışma bazı kısıtlılıklara sahiptir. Biyokimyasal ve histopatolojik parametrelerdeki değişikliklerin saptanabilmesi için belki 24-48 saat gibi daha uzun bir reperfüzyon dönemine ait örneklerin alınması daha uygun olabilirdi. Ayrıca, bu çalışmada hedeflenmediği için deksmedetomidinin apopitozis yolakları üzerindeki etkisinin değerlendirilmemiş olması da başka bir kısıtlayıcı faktör olarak yer almaktadır.

6) SONUÇ

Bu çalışmanın histopatolojik hasar skor sonuçlarına göre,diyabetik sıçan renal iskemi reperfüzyon modelinde deksmedetomidinin iskemi sonrası uygulanması sadece tübüler hasar üzerinde iskemi öncesi uygulamaya kıyasla daha etkin bulunmuştur. Diyabetik renal İR hasarında deksmedetomidinin etkinliği ile ilgili altta yatan mekanizmaları da açıklayacak şekilde bu ajanın faklı doz ve sürelerde uygulandığı yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1) Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure.*N Engl J Med* 1996; 334: 1448-1460.

2) Brezis M, Rosen S, Silva P, Epstein FH. Renal ischemia: A new perspective. *Kidney Int* 1984; 26: 375-383.

3) Caron A, Desrosiers RR, Béliveau R. Kidney ischemia reperfusion regulates expression and distribution of tubulin subunits, beta-actin and rho GTPases in proximal tubules. *Arch Biochem Biophys* 2004; 431: 31–46.

4) Weight SC, Waller JR, Bradley V, Whiting PH ve ark. Interaction of eicosanoids and nitric oxide in renal reperfusion injury. *Transplantation* 2001; 72: 614–619.

5) Kocoglu H, Ozturk H, Ozturk H, Yilmaz F ve ark. Effect of deksmedetomidine on ıschemia-reperfusion ınjury in rat kidney: a histopathologic study. *Ren Fail* 2009; 31: 70-74.

6) Gonullu E, Ozkardesler S, Kume T, Duru LS ve ark. Comparison of the effects of dexmedetomidine administered at two different times on renal ischemia/reperfusion injury in rats.*Braz J Anesthesiol*2014;64:152-158.

7) Bagcik E, Ozkardesler S, Boztas N, Ergur BU ve ark. Effects of dexmedetomidine in conjunction with remote ischemic preconditioning on renal ischemiareperfusion injury in rats. *Rev Bras Anestesiol* 2014; 64: 382-390

8) Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL ve ark. Acute renal failure-definition, outcome, measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 2004; 8: 204–212.

9) Shi H, Patschan D, Epstein T, Goligorsky MS ve ark. Delayed recovery of renal regional blood flow in diabetic mice subjected to acute ischemic kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293: 1512–1517.

10) Woodrow G, Brownjohn AM, Turney JH. Acute renal failure in patients with type Idiabetes mellitus. *Postgrad Med J* 1994; 70: 192–194.

11) Akan M, Ozbılgın S, Boztas N, Celık A ve ark. Effect of magnesium sulfate on renal ischemia-reperfusion injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *EurRevMedPharmacolSci* 2016; 20: 1642-1655

12) Shemin D, Dworkin L. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for early acute kidney injury. *Crit Care Clin* 2011; 27: 379-389.

13) Atila K,Çöker A,Sagol O,Çöker I ve ark. Protective effects of carnitine in an experimental ischemia-reperfusion injury. *Clinical Nutrition* 2002;4:309-313.

14) Huang SS, Wei FC, Hung LM. Ischemic preconditioning attenuates postischemic leukocyte endothelial cell interactions role of nitric oxide and protein kinase C. *Circ J* 2006;70:1070-1075.

15) Olguner C,Koca U,Kar A,Karci A ve ark. Ischemic preconditioning attenuates the lipidperoxidation and remote lung injury in the rat model of unilateral lower limb ischemia reperfusion. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006;50:150-155.

16) McMichael M, Moore MRM. Ischemia–reperfusion injury pathophysiology, part I. *J Vet Emerg Crit Care* 2004; 14: 231-241.

17) Cocco T, Di Paola M, Papa S, Lorusso M. Arachidonic acid interaction with the mitochondrial electron transport chain promotes reactive oxygen species generation. *Free Radıc Bıol Med* 1999;27:51-59.

18) Göksel Ş, Yeğen BÇ. İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Fizyopatoloji* 2009; 22: 5-13.

19) Zelenock G. Clinical ischemic syndromes: mechanism and consequence of tissue injury.*Mosby Co, St. Louis* 1990; 47-62.

20) Heurteaux C, Lauritzen I, Widmann C, Lazdunski M. Essential role of adenosine, adenosine Al receptors, and ATP-sensitive K+ channels in cerebral ischemic preconditioning (forebrain ischemia/gene expression). *Proc Natl Acad Sci USA*1995; 92: 4666–4670.

21) Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994; 81: 637-647.

22) Kılınç K. Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. Biyokimya Dergisi 1985; 2: 60-89.

23) Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol* 1986;250:749-753.

24) Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and preventations of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133-1138.

25) Howell JG, Zibari GB, Brown MF, Burney DL ve ark. Both ischemic and pharmacological preconditioning decrease hepatic leukocyte/endothelial cell interactions. *Transplantation* 2000;69:300–306.

26) Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol Int* 1999; 49: 91–102.

27) Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000; 190: 255–266.

28) Panés J, Perry M, Granger DN. Leukocyte endothelial cell adhesion: Avenues for therapeutic intervention. *Br J Pharmacol* 1999; 126: 537–550.

29) Collard CD, Lekowski R, Jordan JE, Agah A ve ark. Complement activation following oxidative stress. *Mol Immunol* 1999; 36: 941–948.

30) Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R: The changing epidemiology of acute renal failure. *Nat Clin Pract Nephrol* 2006; 2: 364–377.

31) Bonventre JV. Mechanisms of acute renal failure. *Kidney Int* 1993; 43: 1160-1170

32) Noiri E, Gailit J, Sheth D, Magazine H ve ark. Cyclic RGD peptides ameliorate ischemic acute renal failure in rats. *Kidney Int* 1994; 46: 1050-1058.

33) Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *J Biochem* 1984; 222: 1-15.

34) Friedewald JJ, Rabb H: Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 2004; 66: 486-491.

35) Faubel S, Edelstein CL. Caspases as drug targets in ischemic organ injury. *Immune Endocr Metabol Disord* 2005; 5: 269-287.

36) Chamoun F, Burne M, O' Donnel M, Rabb H. Pathophsiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. *FrontBiosci* 2000; 5: 103-109.

37) Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Hastalıkların patogenez ve tedavisinde reaktif oksijen partikülleri ve antioksidanlar. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 1997; 3-4: 96-101.

38) Losonczy G Jr. Early postischaemic renal fibrin deposition and reduction of glomerular filtration rate in the rat: effect of the defibrinating agent Arwin. *Acta Physiol Hung* 1985; 66: 183-187.

39) Druid H, Eneström S, Rammer L: Effect of anticoagulation upon nephron obstruction in experimental acute ischaemic renal failure: a morphological study. *Int J Exp Pathol* 1998; 79: 55-60.

40) Maxwell SR, Lip GY. Reperfusion injury: A review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int J Cardiol* 1997; 58: 95–117.

41) Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD ve ark. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation* 1983; 67: 1016–1023.

42) Maze M, Tranquilli W. ά-2 Adrenoceptor agonists: Defining their role in clinical anesthesia. *Anesthesiology* 1991; 74:581-605.

43) Virtanen R, Savola J, Saano V, Nyman L. Characterization of the selectivity,specificity and potency of medetomidine as an alpha2- adrenoreceptor agonist. *Eur. J. Pharmacol*. 1988; 150:9-14

44) Lomasney JW, Cotecchia S, Lefkowitz RJ, Caron MG. Molecular biology of alfa adrenerjic receptors: İmplications for receptor classification and for structurerelationships.*Biochem Biophys Acta* 1991; 1095:127-139.

45) MacDonald E, Kobilka BK, Scheinin M. Gene targeting: Homing in on alfa-2 adrenoceptor subtype function. *Trends Pharmacol Sci* 1997; 18:211-219.

46) Mantz J. Dexmedetomidine. *Drugs of today* 1999; 35: 151-157.

47) Hayashi Y,RabinBC, Guo TZ,Maze M. Role of pertussis toxin-sensitive Gproteins in the analgesic and anesthetic actions of alfa2 adrenergic agonists in the rat. *Anesthesiology* 1995; 83: 816-822.

48) Nacif-Coelho C, Correa-Sales C, Chang LL, Maze M. Perturbation of ion channel conduvtance alters the hypnotic response to the ά 2 –adrenergic agonist dexmedetomidine in the locus ceruleus of the rat. *Anesthesiology* 1994; 81: 1527-1534.

49) Getrler R, Brown HC, Mitchell DH, Silvius EN. Deksmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *Proc Bayl Univ Med Cent*2001; 14: 13-21.

50) Sanders RD, Maze M. Alpha 2-adrenoceptor agonists. *Curr Opin Investig Drugs* 2007; 8: 25-33.

51) Billings FT, Chen SW, Kim M, Park SW ve ark. Alpha 2-Adrenergic agonists protect against radiocontrast-induced nephropathy in mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 295: 741-748.

52) Ma D, Hossain M, Rajakumaraswamy N, Arshad M ve ark. Dexmedetomidine produces its neuroprotective effect via the alpha 2A-adrenoceptor subtype. *Eur J Pharmacol* 2004; 502: 87-97.

53) Kuhmonen J, Pokorny J, Miettinen R, Haapalinna A ve ark. Neuroprotective effects of dexmedetomidine in the gerbil hippocampus after transient global ischemia. *Anesthesiology* 1997; 87: 371-377.

54) Taniguchi T, Kidani Y, Kanakura H, Takemoto Y ve ark. Effects of dexmedetomidine on mortality rate and inflammatory responses to endotoxin induced shock in rats. *Crit Care Med* 2004; 32: 1322-1326.

55) Gu J, Pamela S, Hailin Z, Helena R ve ark. Dexmedetomidine provides renoprotection against ischemia-reperfusion injury in mice. *Critical Care* 2011; 15: 153-163.

56) Frumento RJ, Logginidou HG, Wahlander S, Wagener G ve ark. Dexmedetomidine infusion is associated with enhanced renal function after thoracic surgery. *J Clin Anesth*2006; 18: 422-426.

57) Kulka PJ, Tryba M, Zenz M. Preoperative alpha 2-adrenergic receptor agonists prevent the deterioration of renal function after cardiac surgery: results of a randomized, controlled trial. *Crit Care Med* 1996; 24: 947-952.

58) Solez K, Ideura T, Silvia CB, Hamilton B ve ark. Clonidine after renal ischemia to lessen acute renal failure and microvascular damage. *Kidney Int* 1980; 18: 309-322.

59) Tsutsui H, Sugiura T, Hayashi K, Ohkita M ve ark. Moxonidine prevents ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats. *Eur J Pharmacol* 2009; 603: 73-78.

60) Villela NR, Nascimento PVN, Carvalho LR. Effects of dexmedetomidine on renal system and on vasopressin plasma levels. Experimental study in dogs. *Rev Bras Anestesiol* 2005; 55: 429-440.

61) Scheinin M, Kallio A, Koulu M, Viikari J ve ark. Sedative and cardiovascular effects of medetomidine, a novel seletive alpha2-adrenoceptor agonist, in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 1987; 24: 443-451.

62) Kallio A, Scheinin M, Koulu M, Ponkilainen R ve ark. Effects of deksmedetomidine, a seletive alpha-2adrenoceptor agonist, on hemodynamic control mechanisms. *Clin Pharmacol Ther* 1989; 46: 33-42.

63) Aho M, Scheinin M, Lehtinen AM, Erkola O ve ark. Intramusculary administered deksmedetomidine attenuates hemodynamic and stres hormone responses to gynecologic laparoscopy. *Anesth Analg* 1992; 75: 932-939.

64) Talke P, Chen R, Thomas B, Aggarwall A ve ark. The hemodynamic and adrenergic effects of perioperative deksmedetomidine infusion after vascular surgery. *Anesth Analg* 2000; 90: 834-839.

65) Jalonen J, Hynynen M, Kuitunen A, Heikkila H ve ark. Deksmedetomidine as an anesthetic adjunct in coronary artery bypass grafting. *Anesthesiology* 1997; 86: 331-345.

66) Nolan CR, Schrier RW. Kidney in hypertension. In: Williams & Wilkins Lippincott. Schrier RW. Renal and Electrolyte Disorders; 6th edition 2005: 272–324.

67) Oldfield MD, Cooper ME. The biochemistry and pathophysiology of renal lesions in type 2 diabetes. In: Mogensen CE, Diabetic Nephropathy in Type 2 Diyabetes. London: Science Press: 1st edition 2002;41–56.

68) Süleymanlar G, Ünal S. Diabetes mellitusta tanı ve sınıflandırma, İç Hastalıkları Ed: İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal S. 2. Baskı, Ankara: Öncü Basımevi, 2005; 2279-2295.

69) Satman I, Yılmaz T, Sengul A, Salman S ve ark. The TURDEP group: Population- based study of diabetes and risk charasteristics in Turkey: result of the Turkish diabetes epidemiology study. *Diabetes Care* 2002; 25: 1551-1556.

70) Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S ve arkve ark. Twelve-year trends in the prevelance and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol* 2013; 28: 169-180.

71) Onat A, Çakır H, Karadeniz Y, Dönmez İ ve ark. Turkish Adult Risk Factor survey 2013: rapid rise inthe prevalence of diabetes. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2014; 42: 511-516.

72) Altuntaş Y. Diabetes mellitus'un tanımı, tanısı ve sınıflaması. Her yönüyle diabetes mellitus Ed: Yenigün M, Altuntaş M.. Nobel Tıp Kitabevleri 2. Baskı, istanbul:2001; 51-62.

73) Erdoğan G. Koloğlu Endokrinoloji temel ve klinik.2. Baskı, Ankara: MN Medical & Nobel, 2005; 367-383.

74) Herman WH. Eye Disease and nephropathy in NIDDM.*Diabetes Care*1990; 13:24-29.

75) Osterby R,Gundersen HJG. Glomerular size and structure in diabetes mellitus. *Diabetolojia*1990; 33:407-410.

76) Norgaard K, Feldt-Rasmussen B, Borch-Johnson K, Saelan H ve ark: Prevelance of hypertension in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 1990; 33: 407-410.

77) Mauer SM, Steffes MW, Ellis EN, Sutherland DE ve ark. Structural–functional relationship in diabetic nephropathy.*J Clin Invest* 1984;74:1143-1155.

78) Abu-Saleh N, Ovcharenko E, Awad H, Goltsman I. Involvement of the endothelin and nitric oxide systems in the pathogenesis of renal ischemic damage in an experimental diabetic model. *Life Sciences* 2012; 91: 669–675.

79) Mori K, Nakao K. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the realtime indicator of active kidney damage. *Kidney Int* 2007; 71: 967-970.

80) Mishra J, Mori K, Ma Q, Kelly C ve ark Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a novel early urinary biomarker for cisplatin nephrotoxicity. *Am J Nephrol*2004; 24: 307-315.

81) Nickolas TL, Barasch J, Devarajan P. Biomarkers in acute and chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008;17: 127-132.

82) Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengeløv H, Borregaard N. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J Biol Chem* 1993; 268: 10425-10432.

83) Flower DR. The lipocalin protein family: structure and function. *Biochem J* 1996; 318: 1-14.

84) Cowland JB, Borregaard N. Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. *Genomics* 1997; 45: 17-23.

85) Soni SS, Cruz D, Bobek I, Chionh CY ve arkNGAL: a biomarker of acute kidney injury and other systemic conditions. *Int Urol Nephrol* 2010; 42: 141-150.

86) Yan L, Borregaard N, Kjeldsen L, Moses MA. The high molecular weight urinary matrix metalloproteinase (MMP) activity is a complex of gelatinase B/MMP-9 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL). Modulation of MMP-9 activity by NGAL. *J Biol Chem* 2001; 276: 37258-37265.

87) LiuQ, Ryon J, Nilsen-HamiltonM.Uterocalin: a mouseacutephaseproteinexpressedin the uterus aroundbirth. *MolReprod Dev*1997;46: 507-514.

88) Mehta RL, KellumJA, Shah SV, Molitoris BA ve ark. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007; 11: 31-36.

89) Malyszko J. Biomarkers of Acute Kidney Injury in Different Clinical Settings: A Time to Change the Paradigm. *Kidney Blood Press Res* 2010; 33: 368-82.

90) Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M ve ark. Identification of neutrophil gelatinase-asso- ciated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2534-2543.

91) Parikh CR, Devarajan P. New biomarkers of acute kidney injury. *Crit Care Med* 2008; 36: 159-165.

92) Yuen PS, Jo SK, Holly MK, Hu X ve ark. Ischemic and nephrotoxic acute renal failure are distinguished by their broad transcriptomic responses. *Physiol Genomics* 2006; 25: 375-386.

93) Guneli E, Tuygan K, Ozturk H, Gumustekin M ve ark. Effect of melatonin on testicular damage in streptozotocin- induced diyabetes rats. *Eur Surg Res* 2008; 26: 354-360.

94) Yapca OE, Borekci B, Suleyman H. Ischemia-Reperfusion Damage. *The Eurasian Journal of Medicine*, 2013, 45: 126-127.

95) Devarajan P. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1503–1520.

96) Baud L, Ardaillou R. Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *Br Med Bull* 1993; 49: 621-629.

97) Greene EL, Paller MS. Oxygen free radicals in acute renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 1991; 17: 124 -132.

98) Fouad AA, Al-Mulhim AS, Jresat I, Morsy MA. Protective effects of captopril in diabetic rats exposed to ischemia/reperfusion renal injury. *J Pharm Pharmacol* 2013;65:243-252.

99) Williams P, Lopez H, Britt D, Chan C ve ark. Characterization of renal ischemia-reperfusion injury in rats. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1997; 37: 1-7.

100) Kou M, Li R, Zhou Y, Qiao X ve ark. The intermediate and the differential receptor expression on renal ischemia/reperfusion rats. *J Med Res* 2009;38:25–28.

101) Sugita S, Okabe T, Sakamoto A. Continuous infusion of dexmedetomidine improves renal ischemia-reperfusion injury in rat kidney. *J Nippon Med Sch*. 2013;80:131-139.

102) Si Y, Bao H, Han L, Shi H ve ark.Dexmedetomidine protects against renal ischemia and reperfusion injury by inhibiting the JAK/STAT signaling activation. *J Transl Med*. 2013;11:141.

103) Kip G, Çelik A, Bilge M, Alkan M ve ark. Dexmedetomidine protects from post-myocardial ischaemia reperfusion lung damage in diabetic rats. *Libyan J Med* 2015; 10:1-7.: http://www.libyanjournalofmedicine.net/index.php/ljm#tabMostViewedArticles

104) Zeng X, Wang H, Xing X, Wang Q ve ark. Dexmedetomidine Protects against Transient Global Cerebral Ischemia/Reperfusion Induced Oxidative Stress and Inflammation in Diabetic Rats. *Plos One* 2016;3:1-15. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4794239

105) KerstenJR, Schmeling TJ, Orth KG, Pagel PS ve ark. Acute hyperglycemia abolishes ischemic preconditioning in vivo. *Am. J. Physiol*1998;275:721–725.

106) Schenning KJ, Anderson S, Alkayed S, Hutchens MP. Hyperglycemia abolishes the protective effect of ischemic preconditioning in glomerular endothelial cells in vitro. *Physiol Rep* 2015;3:1-7.e12346.http://physoc.onlinelibrary.wiley.com/hub/issue/10.1111/phy2.2015.3.issue-3

107) Carraretto AR, Filho P, Castiglia Y, Golim M ve ark. Does propofol and isoflurane protect the kidney against ischemia/reperfusion injury during transient hyperglycemia? *Acta Cir Bras*2013;28:161-166.

108) Souza AVG, Golim MA, Deffune E,Domingues MAC ve ark. Evaluation of Renal Protection From High Doses of Melatonin in an Experimental Model of Renal Ischemia and Reperfusion in Hyperglisemic Rats.*Transplant Proc* 2014; 46: 1591-1593.

109) Wang H, Chen H, Wang L, Liu Lin ve ark. Acute hyperglycemia prevents dexmedetomidine-induced preconditioning against renal ischemia-reperfusion injury. *Acta Cir Bras*2014;29:812-818.

110) Caetano AMM, Filho PTG, Castiglia YMM, Golim MA ve ark. Erythropoietin Attenuates Apoptosis After Ischemia-Reperfusion-Induced Renal Injury in Transiently Hyperglycemic Wister Rats.*Transplant Proc*2011;43:3618–3621.

111) Zhou S, Liao WT, Yang LK, Sun L. Effects of sevoflurane pretreatment on renal Src and FAK expression in diabetic rats after renal ischemia/reperfusion injury. *Mol Cell Biochem* 2013;384:203–211.

112) Kurcer Z, Parlakpinar H, Vardi N, Tasdemir S ve ark. Protective Effects of Chronic Melatonin Treatment Against Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats.*Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2007; 115: 365–371.

113) Ozbilgin S, Ozkardesler S, Akan M, Boztas N ve ark. Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Diabetic Rats: The Role of Local Ischemic Preconditioning. *BioMed Res Int* 2016; 2016: 8580475. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4746276/

114) Lisowska-Myjak B.Serum and urinary biomarkers of acute kidney injury.*Blood Purif* 2010;29:357-365.

115) Dent CL, Ma Q, Dastrala S, Bennett M ve ark. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts acute kidney injury, morbidity and mortality after pediatric cardiac surgery: a prospective uncontrolled cohort study. *Crit Care* 2007; 11:127.

116) Ricci Z, Ronco C. Today's approach to the critically ill patient with acute kidney injury. *Blood Purif* 2009; 27: 127–134.

117) Wheeler DS, Devarajan P, Ma Q, Harmon K ve ark. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of acute kidney injury in critically ill children with septic shock. *Crit Care Med* 2008; 36: 1297–1303.

118) Haase M,Bellomo R, Devarajan P,Schlattmann Pve ark. Accuracy of NeutrophilGelatinaseAssociated Lipocalin (NGAL) in diagnosisand prognosis in acute

kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Am JKidney Dis*2009;54:1012-1024.

EK-1

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
35340, İnciraltı, İzmir-232 4122234

Gündem No/ Toplantı No/Yıl : 03/20/2014
Toplantı Tarihi : 04 Kasım 2014

Sayın , Prof.Dr.Sevda ÖZKARDEŞLER
Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D

56/2014 Protokol No'lu; yürütücüsü olduğunuz **"Diyabetik Ratlarda Renal İskemi Reperfüzyon Hasarına İki Farklı Zamanda Uygulanan Deksmedetomidinin Etkilerinin Karşılaştırılması"** isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

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

Prof.Dr.Ali Necati GÖKMEN
Başkan Vekili
(topl. katılamadı)

Prof.Dr.Turna İLKNUR
Üye

Prof.Dr.Hüseyin BASKIN
Üye

Prof.Dr.Alper SOYLU
Üye

Prof.Dr.Hüsnü Alper BAĞRIYANIK
Üye

Prof.Dr.Gülgün OKTAY
Üye

Prof.Dr.Safiye AKTAŞ
Üye

Prof.Dr.M.Ensari GÜNELİ
Üye (arastırmacı)

Prof.Dr. Hatice Nur OLGUN
Üye(Topl.Katılamadı)

Doç.Dr.Türkan ERTAY
Üye

Doç.Dr.Pembe UYGUN KESKİNOĞLU
Üye

Doç.Dr.Meral KARAMAN
Üye

Doç.Dr.Nermin Nüket GÖÇMEN MAS
Üye

Yard.Doç.Dr.Orhan KALEMCİ
Üye (Topl.Katılamadı)

Vet.Hekim Adnan SERPEN
Üye

Zehra KINAM
Üye

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