

T.C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

İNTRAABDOMİNAL BASINÇ ARTIŞI SAĞLANMIŞ RATLARDA
DEXMEDETOMİDİNİN
AKCİĞER APOPTOZİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. YASEMİN ERTAN SAVCI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. GÖNÜL TEZCAN KELEŞ

MANİSA 2007

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan başta Anesteziyoloji ve Reanimasyon Ana Bilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Demet Tok olmak üzere, tüm öğretim üyelerime, tez çalışmamın her aşamasında tüm sabır ve fedakarlığı ile daima yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen sevgili hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Gönül Tezcan Keleş'e, tezimin ortaya çıkmasında büyük emeği olan Histoloji ve Embriyoloji A.D. öğretim üyelerinden Doç. Dr. Seda Vatansever'e ve Arş.Gör.Dr.Elgin Türköz'e, deneysel modelin oluşturulmasında emeği geçen Genel Cerrahi A.D. öğretim üyelerinden Doç.Dr. Eray Kara ve Arş.Gör.Dr. Okan Yumuş'a, dört yıllık asistanlık eğitim sürecimde birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım arkadaşlarıma, hayatım boyunca sevgi ve özverilerini benden esirgemeyen aileme ve sabrından dolayı değerli eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Yasemin Ertan Savcı

İÇİNDEKİLER

	KISALTMALAR	Sayfa
I.	GİRİŞ	2
II.	GENEL BİLGİLER	4
III.	GEREÇ VE YÖNTEM	25
IV.	BULGULAR	29
V.	TARTIŞMA	37
VI.	SONUÇ	43
VII.	ÖZET	44
VII.	SUMMARY	46
VIII.	KAYNAKLAR	48

KISALTMALAR

ADH	Antidiüretik hormon
AIDS	Edinilmiş İmmun Yetmezlik Sendromu
AIF	Apoptosis Başlatıcı Faktör
AKS	Abdominal Kompartman Sendromu
ALI	Akut akciğer hasarı
ARDS	Akut Respiratuar Distres Sendromu
Bcl-2	B Lösemi hücresi/ 2
cAMP	Siklik adenzin monofosfat
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
DAB	Diaminobenzidine
DNA	Deoksiribonükleik asit
EEG	Elektroensefalografi
Endo G	Endonükleaz G
IAP	Apoptosis İnhibitörü
ICAD	İnhibitor of caspase-activated DNase
MAC	Minimum Alveolar Konsantrasyon
PARP	Poly ADP-ribose Polymerase
PMNL	Polimorfonükleer Lökosit
PBS	Posphate buffer solution
REM	Rapid Eye Movement
TNF	Tümör Necrosis Faktör
TNFR	Tümör Necrosis Faktör Reseptör
TRAIL	TNF İlişkili Apoptosis Başlatıcı Faktör
TRAIL-R	TNF İlişkili Apoptosis Başlatıcı Faktör Reseptör
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl transferase (Tdt)-mediated dUTP-biotin nick-end labeling

I.GİRİŞ

İntraabdominal basınç artışı yoğun bakım hastalarında sık karşılaşılan sorunlardan birisidir. Abdominal kompartman sendromu (AKS), intraabdominal basınç artışı sonucu, özellikle kardiyovasküler, respiratuvar ve renal sistemlerde olmak üzere çoklu organ fonksiyon bozukluğu ile karakterizedir. İleri dönemde çoklu organ yetmezliği ile sonuçlanır.

AKS, klasik olarak; abdominal distansiyon, düşük kardiyak debi, solunum yollarında yüksek basınç, oligüri ve yüksek intraabdominal basınç ile birliktedir. İntraabdominal basınç artışı ile diyafragmanın pasif olarak yükselmesi, basıncı plevral kaviteye yansıtarak statik ve dinamik akciğer kompliansını ve aynı zamanda torasik kompliansı azaltır. Total akciğer kapasitesi, fonksiyonel residüel kapasite ve vital kapasite azalır. Sonuçta hastalarda hipoventilasyon ve ventilasyon-perfüzyon uyumsuzluğuna bağlı hipoksi, hiperkarbi ve respiratuvar asidoz gelişir. Bu hastalarda etkin ventilasyon, mekanik ventilasyon desteği ile mümkündür.

Yapılan bir çalışmada (1) akut akciğer hasarı ve akut respiratuvar distres sendromunda (ARDS) intraabdominal basınç artışının önemi ortaya konulmuştur. Akciğerdeki polimorfonükleer lökositlerin, apoptosisi inflamasyon ve akut akciğer hasarı sırasındaki ARDS gelişimini önlemesine rağmen, Fas/FasL aracılı alveolar epitelyal hücre apoptosisi akut akciğer hasarı ve pulmoner fibrosise yol açar (1).

Apoptoz hasta ve gerekmeyen hücrelerin, kontrollü ve genetik olarak kontrol edilen bir mekanizma ile çevre hücrelere zarar verilmeden yok edilme olayıdır (2, 3). Apoptoz fizyolojik durumlardaki hücre ölümü olsada bazı patolojik etkenlerle de ortaya çıkabilir.

Deksmetomidin sedatif, anksiyolitik, analjezik etkileri ve solunum depresyonu oluşturmaması nedeniyle yoğun bakımda iyi bir tercihtir. Deksmetomidinin solunum sistemi üzerine minimal etkileri vardır. PaCO₂ yi az miktarda arttırmaktadır. Bu da solunum depresyonu yapan anesteziyelere göre önemli bir avantajdır (4).

Bu çalışmada intraabdominal basınç artışının neden olduğu akciğer apoptozisi üzerine bir alfa-2 adrenoreseptör agonisti olan dexmedetomidinin etkilerinin araştırılması planlandı.

II. GENEL BİLGİLER

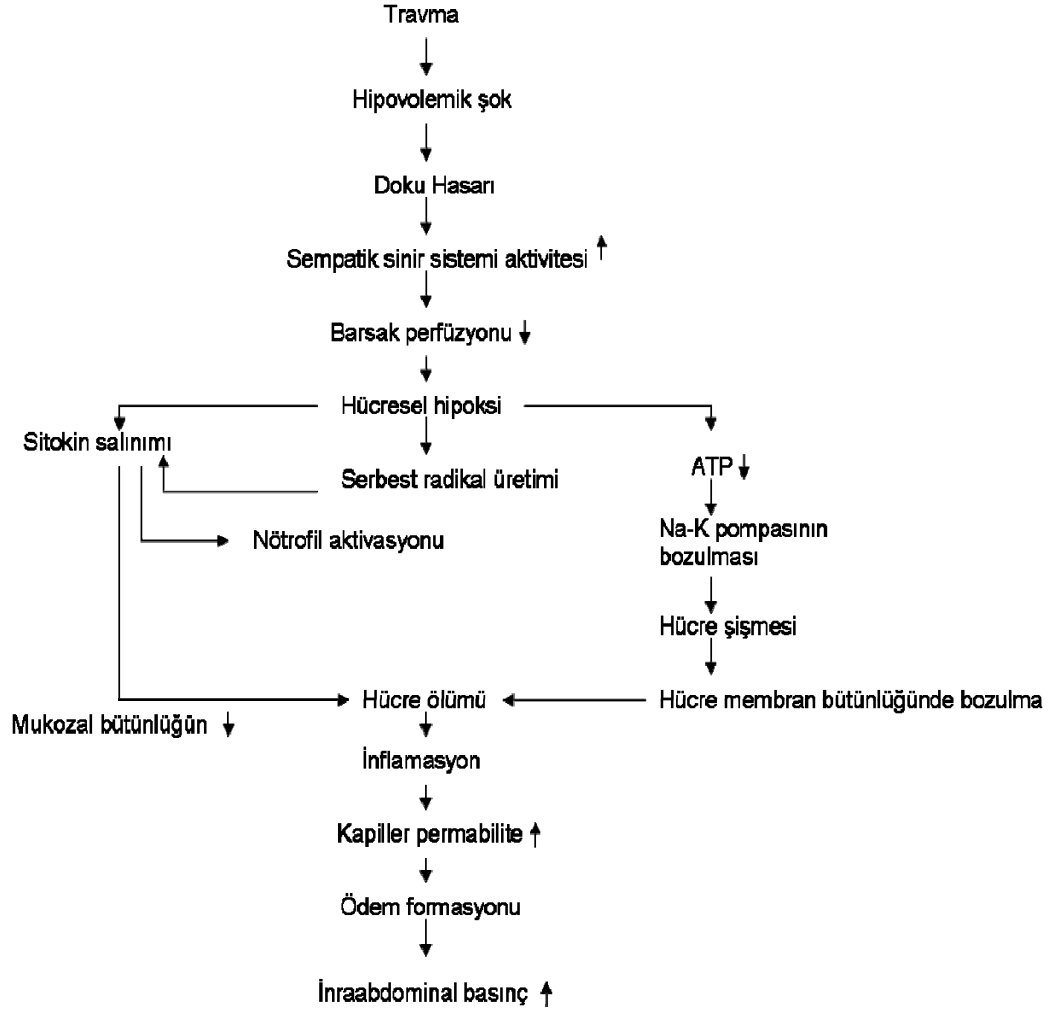
II.1-İntra Abdominal Basınç Artışı:

İntraabdominal basıncın sürekli artışı, özellikle kardiyovasküler, respiratuvar ve renal sistemlerde olmak üzere çoklu organ fonksiyon bozukluğu ile karakterize “abdominal kompartman sendromu” (AKS) olarak adlandırılan klinik tabloya neden olur (5). İlerleyen dönemlerde bu tablo çoklu organ yetmezliği ile sonuçlanır.

Abdominal kompartman sendromu, klasik olarak;

- abdominal distansiyon,
- düşük kardiyak debi,
- solunum yollarında yüksek basınç,
- oligüri,
- yüksek intraabdominal basınç ile birlikte

Abdominal kompartman sendromu, daha çok post travmatik dönemde yapılan laparotomilerden sonra meydana gelen bir komplikasyon olmakla birlikte, abdominal travmanın söz konusu olmadığı post-travmatik hipovolemik şok için resüsitasyon yapılan hastalarda da sekonder olarak görülmektedir (5). İntraabdominal basınç artışının sebebi, barsaklarda, diğer peritoneal ve retroperitoneal organlarda gelişen ilerleyici hipoperfüzyon ve iskemidir. Buna bağlı olarak sitokinlerin, serbest oksijen radikallerin salınımının artması ve hücrelerde ATP (adenozin trifosfat) üretiminin azalması abdominal kompartman sendromunun patofizyolojisinde etkilidir.



ŞEKİL 1: Abdominal kompartman sendromunun fizyopatolojisi

Sendromun şiddeti, intraabdominal basıncın artış derecesine bağlıdır. Major abdominal cerrahilerden sonra hastaların %38-41'inde intraabdominal basınç 18-20 mm Hg'nin üzerinde ölçülür (5). Travma hastalarının ise %14'ünde AKS olduğu ileri sürülmektedir. AKS' nin tanı ve tedavisi erken dönemde yapılırsa bile mortalite % 42-71 oranındadır (5). AKS düşünülen hastada tanının onaylanması için intraabdominal basınç ölçülmelidir.

İntraabdominal basıncın normal değeri, atmosferik basıncın üzerinde 0-5 mmHg dir. AKS, intraabdominal basınca göre evrelendirilmektedir. Patolojik değişiklikler 10 mm Hg basıncından sonra ortaya çıkar. Splanknik hipoperfüzyon 15 mm Hg basıncından sonra görülmektedir (6).

TABLO 1: Primer AKS'de intraabdominal basınç artışlarının sistemik etkileri ;

Etkilenen organ	İntraabdominal basınç 10-15 mm Hg (EVRE 1)	İntraabdominal basınç 16-25 mmHg (EVRE 2)	İntraabdominal basınç >25 mmHg (EVRE 3)
Kardiyovasküler	preload artar, kontraktilite ve afterload değişmez kardiyak debi artar	preload ve kardiyak debi düşer afterload artar	preload, kardiyak debi ve kontraktilite azalır afterload artar
Böbrek	İdrar debisi hafif azalır	Oligüri gelişir	Anüri ve akut renal yetmezlik
Splanknik alan	Hepato-splanknik iskemi bakteriyel translokasyon riski meydana gelir	Hepato-splanknik iskemi ve bakteriyel translokasyon meydana gelir	Mezenterik infarktüs riski ve hepatik yetmezlik gelişir

İntraabdominal basınç direk olarak peritoneal kavite içine yerleştirilen bir pnömoperitoneum iğnesi ile ölçülebilir, ancak bu yöntemle barsak travması gelişme riski yüksektir. İndirek olarak ise mesane basıncı ölçümü, vena kava basıncı ölçümü ve gastrik basınç ölçümü intraabdominal basıncı yansıtır.

İndirekt yöntemler:

1. Mesane basıncı ölçülmesi: Mesane içeriği 50-100 ml arasında iken intraabdominal basıncı doğru olarak yansıtır. Bu ölçümde referans noktası simfisis pubisdir. Bu yöntem nörojenik, non-kontraktıl mesane veya pelvik hematoma olduğu zaman doğru sonuç vermez. İntraveziküler basınç ölçümü Kron yöntemi ile yapılmaktadır. Standart bir intavenöz infüzyon seti 1000 ml'lik bir serum fizyolojik şişesine ve 50 ml'lik bir enjektör ve bir basınç ölçme sistemine bağlanır. Bu sistem, bir infüzyon kateteri aracılığı ile foley sondanın aspirasyon portuna ilave edilerek basınç, simfisis pubis seviyesinde sıfır noktasına ayarlanır. Enjektör ile 50 ml serum fizyolojik şişeden alınarak mesane içine verilir ve ekspirasyon fazının sonunda intraabdominal basınç ölçülür. Bu işlem, foley sondadan mesane boşaltılarak tekrarlanır.
2. Inferior vena kava basıncı: Deneysel çalışmalar inferior vena kava basıncı ile intraabdominal basınç arasında korelasyon olduğunu göstermiştir. Bu yöntemin en önemli riski femoral ven trombüsü meydana gelmesidir.

3. Gastrik basınç: Nazogastrik tüp veya gastrostomi kanülünden mide içine 50-100 ml sıvı verilerek su manometrisi ile intraabdominal basınç ölçülebilir. Bu yöntemde basınç referans noktası orta aksiller çizgidir.

İntraabdominal basınç artışının pulmoner fonksiyonlar üzerine etkisi:

İntraabdominal basınç artışı ile diyafragmanın pasif olarak yükselmesi, intraabdominal basıncı plevral kaviteye yansıtarak statik ve dinamik akciğer kompliansını ve aynı zamanda torasik kompliansı azaltır (5, 7, 8). Total akciğer kapasitesi, fonksiyonel residüel kapasite ve vital kapasite azalır. Sonuçta hipoventilasyon ve ventilasyon-perfüzyon uyumsuzluğuna bağlı hipoksi, hiperkarbi ve respiratuvar asidoz gelişir. Bu hastalarda etkin ventilasyon, ancak mekanik ventilatörlerle mümkündür. Cerrahi abdominal dekompresyon, statik akciğer kompliansını arttırarak oksijenasyonun düzelmesini sağlar (9, 10).

İntraabdominal basınç artışının kardiyovasküler etkileri:

15 mm Hg'nin altında intraabdominal basınç artışında santral venöz basınç, intraabdominal basınçtan yüksek olduğundan splanknik ve alt ekstermitelerin vasküler yatağından oto-transfüzyon fenomeni ile ventriküler preload artırılarak kardiyak debi stabil olarak korunabilir. İntraabdominal basınç 20 mm Hg'nin üzerine çıktığında, santral venöz basınç intraabdominal basınçtan daha düşük olacağından kardiyak debi, çeşitli mekanizmalarla düşer; bu mekanizmalar,

1- İnférieur vena kava ve portal vene doğrudan kompresyona veya intratorasik basıncın artmasına bağlı olarak inferior vena kava akımının azalması ile venöz dönüş azalır.

2- İnratorasik basınç artışı doğrudan kardiyak kompresyonla ventriküler end-diastolik volümü azaltır.

3- Kapiller yatak üzerine mekanik kompresyona bağlı olarak sistemik vasküler direnç artışı ile ventriküler afterload artar.

Şiddetli abdominal kompartman sendromunda tipik belirtiler; düşük kardiyak debi, yüksek sistemik vasküler direnç, yüksek santral venöz basınç ve yüksek pulmoner kapiller "wedge" basınçtır.

İntraabdominal basınç yükseldiğinde, santral venöz basınç ve pulmoner arter oklüzyon basıncı hastanın intravasküler volüm durumu hakkında doğru bilgi vermez. Bununla birlikte çeşitli hayvan deneylerinde santral venöz basınç ve pulmoner arter oklüzyon basıncında yaklaşık %20 artış olduğu gösterilmiştir (5).

İntraabdominal basınç artışının renal etkileri:

İntraabdominal basınç artışının en önemli belirtilerinden biri oligüridir. Abdominal kompartman sendromunda kardiyak debinin azalması, renal kan akımının azalması, böbrek, renal ven ve renal arterin kompresyon altında olması, sonuçta bir renal kompartman sendromunun ortaya çıkmasına yol açarak renal disfonksiyona neden olur (11).

İntraabdominal basınç artışının splanik etkileri:

Özellikle intraabdominal basınç 15 mm Hg'nin üzerine çıktığında hepatik, mezenterik ve splanik kan akımında azalma meydana getirir. Bu da, barsak iskemisi ve bakteriyel translokasyona sebep olur (12).

İntraabdominal basınç artışının intrakranial basınç üzerine etkileri:

Bir taraftan lomber venöz pleksusta venöz drenajın bozulması, diğer taraftan intratorasik basıncın artmasına sekonder serebral venöz dönüşü engelliyerek intrakranial basıncı artırır (12).

II.2- Apoptosis

Programlanmış hücre ölümü (apoptozis) normal doku veya organ homeostazisinde enerji bağımlı bir işlem olarak ilk kez 1972 yılında Kerr ve ark. tarafından tanımlanmıştır (13). Yunanca'da "ayrı düşmek" anlamına gelen 'apo' ve 'ptozis' sözcüklerinin birleştirilmesi sonucu isimlendirilmiştir. Apoptoz hücre içi iyi düzenlenmiş bir program ile hücre ölümüdür. Apoptoz koordine, internal kontrollü, gen ürünlerinin düzenlediği bir seri olayın aktivasyonu ile istenmeyen hücrelerin elimine edilmesi olayıdır. Genel olarak fizyolojik, patolojik ve adaptif olaylar sırasında görülür.

Fizyolojik olaylara bağlı apoptozis:

- Embriolojik gelişim sırasında (14, 15)
- Hormon bağımlı doku involusyonu (16)
- Host hücrelerin ölümü akut inflamasyonda polimorf nüveli lökositler (14)
- İmmun olaylarda lenfositlerin eliminasyonu (16)
- Oto reaktif lenfositlerin ölümü (16)
- Sitotoksik T hücreleri ile virüs enfekte veya neoplastik hücrelerin ölümü (16)

Patolojik olaylara bağlı apoptozis:

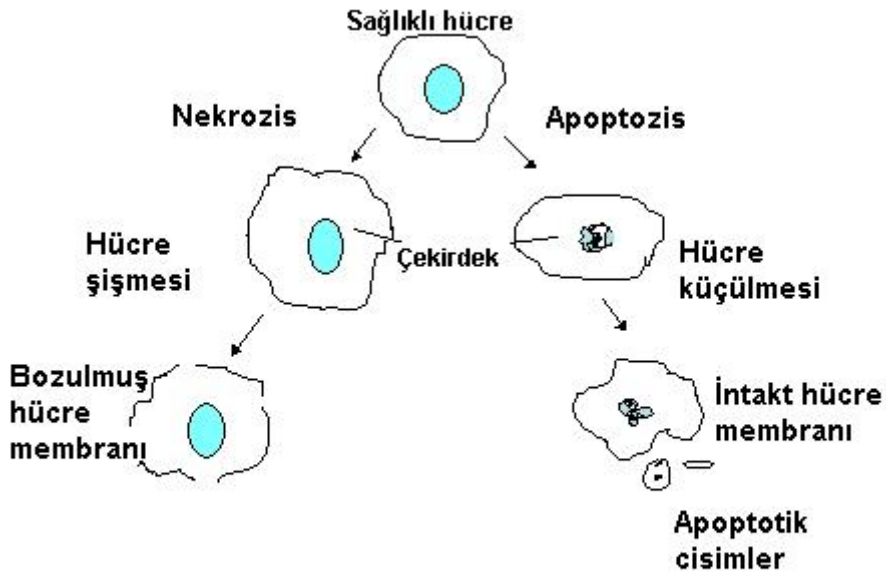
- Apoptozisin artması AIDS (edinilmiş immün yetmezlik sendromu) hastalığının karakteristik özelliğidir (17)
- İskemik beyin hasarında apoptozis gözlenir (18, 19, 20)
- Alzhemier, Parkinson, amfiyotrofik lateral skleroz gibi nörodejeneratif hastalıklar (21)
- Miyokardial enfarktüsten sonra iskemik hasarda, darbe ve reperfüzyonda,
- Hepatit ve graft versus host gibi otoimmün hastalıklarda gözlenir (14)
- Glomerulonefrit, akut ve kronik renal yetmezlik, diabetik nöropati ve polikistik böbrek hastalıkları gibi hastalıklarda renal hasarların apoptozisin rol oynadığı görülür (22).

Normal dokularda hücre proliferasyonu ve hücre ölümü denge içindedir. Yetişkin dokularında bu denge hali doku hacminin devamlılığını sağlar (23).

Canlı hücrelerde hücre ölümü iki şekilde gerçekleşmektedir. Bunlardan biri fiziksel veya kimyasal reaksiyonlar sonucunda patolojik olarak gerçekleşen nekroz, diğeri ise programlı hücre ölümü olarak bilinen fizyolojik veya patolojik bir uyararla meydana gelebilen hücre ölüm mekanizması olarak apoptozistir (24).

Apoptozis ve nekroz ile gerçekleşen hücre ölümleri morfolojik ve biyokimyasal değişimler ile tanımlanır. Apoptozis ile ölen bir hücrede, hücrenin küçülmesi (cell shrinkage), çekirdeksel ve sitoplazmik yıkım, kromatin fragmentasyonu ve fagositoz gözlenir, fakat enflamasyon gözlenmez. Nekrozda

ise, enflamasyon, hücresel şişme ve hücre zarının bozulması gözlenir (25, 26, 27, 28) (Şekil 2). Apoptozis hücrede gerçekleşen herhangi bir hasara cevaben oluşur iken, nekroz genellikle bu hasarın sonucu olarak gelişir. Apoptozis önceden belirlenen bir yol ile koordineli olarak meydana gelirken, nekroz birçok biyokimyasal olaydan bağımsız olarak gerçekleşir ve hücrede enerji stoklarının tükenmesi ile aktive olur (29, 30) (tablo 2)



Şekil 2: Apoptozise giden bir hücrede hücre küçülmesi gözlenirken, nekroz ile ölen bir hücrede hücre şişmesi gözlenir. Apoptotik hücrenin hücre zarı canlı kalırken, nekrotik hücrelerin hücre zarları parçalanır ve apoptozis ile ölen hücrede meydana gelen apoptotik cisimler komşu hücreler tarafından fagosite edilir.

TABLO 2: Nekroz ve apoptozisin genel özellikleri

Özellik	Nekroz	Apoptozis
Hücre boyutu	Genişleme (şişme)	Küçülme (büzülme)
Nükleus	Piknoz, karyoreksis, karyolizis	Fragmantasyon
Hücre zarı	Bütünlüğü bozuk	Korunmuş, yapısal bozukluk
Hücresel içerik	Enzimatik sindirim	Korunmuş
İnflamasyon	Sık	Yok
Fizyolojik veya patolojik rolü	Patolojik	Sıklıkla fizyolojik, bazen patolojik

Apoptozisdeki morfolojik ve biokimyasal olaylar

Morfoloji: Bazıları elektron mikroskopunda daha iyi görülen aşağıdaki olaylar apoptozisi karakterize eder.

Hücre büzülmesi: Hücre daha küçük boyuttadır, sitoplazma yoğundur, organeller göreceli olarak normal olmalarına rağmen daha sıkı paketlenmiştir.

Kromatin kondansasyonu: Bu apoptozun en karakteristik özelliğidir. Kromatin periferde nükleer membranın altında çeşitli şekil ve büyüklüklerde, iyi sınırlı, yoğun kitleler olarak kümelenir. Nükleus ise iki veya daha fazla parçaya ayrılabilir.

Sitoplazmik baloncuklar veya apoptotik cisimlerin oluşumu: Apoptotik hücre ilk önce sitoplazmik baloncuklar gösterir. Daha sonra ise bunlar çok sayıda nükleer parça içerebilen apoptotik cisim adı verilen membranla çevrili sitoplazma ve organel parçacıklarına dönüşür.

Apoptotik cisimler ve hücrelerin fagositozu. Yakındaki komşu hücreler, parankimal hücreler ve makrofajlar bu apoptotik cisimleri fagosite eder. Apoptotik cisimler hızla lizozomlar içinde parçalanır, komşu hücreler migrasyonla veya proliferasyonla apoptotik hücrenin boşluğunu doldurur.

Apoptozda en önemli değişiklik hücre nükleusunda gelişir. Organeller ve membran sağlamdır. Kromatin kondansasyonu ile birlikte nükleus büzülür ve bunu nükleer membranın kaybı ve nükleer materyalin rezidüel fragmanlara parçalanması izler. Bu apoptotik cisimler komşu hücreler tarafından içeri

alınırlar. Lökositlerin infiltrasyonu ile gelişen inflamatuvar reaksiyon apoptoziste bulunmaz (31). Apoptozis enerji gerektiren aktif bir olaydır ve hücre nekrozunda görülen sitoplazmik disintegrasyonu izleyen nükleer otolizisten tamamen farklıdır (32).

Histolojik incelemede hematoksilen eozin ile boyanmış dokularda, apoptozisin tek hücreyi veya hücre kümelerini tuttuğu gözlenir. Apoptotik hücreler yuvarlak veya oval, yoğun eozinofilik sitoplazmalı dens nükleer kromatin parçaları ile birlikte görülür. Hücre küçülmesi ve apoptotik cisimlerin oluşması hızlıdır ve parçalar hızla fagosite edilir, parçaları veya lümene dökülür. Histolojik kesitlerde görünür olmadan önce dokuda anlamlı apoptoz meydana gelebilir. Ek olarak apoptoz nekrozdan farklı olarak inflamasyon oluşturmaz ve bu da histolojik olarak saptanmasını güçleştirir.

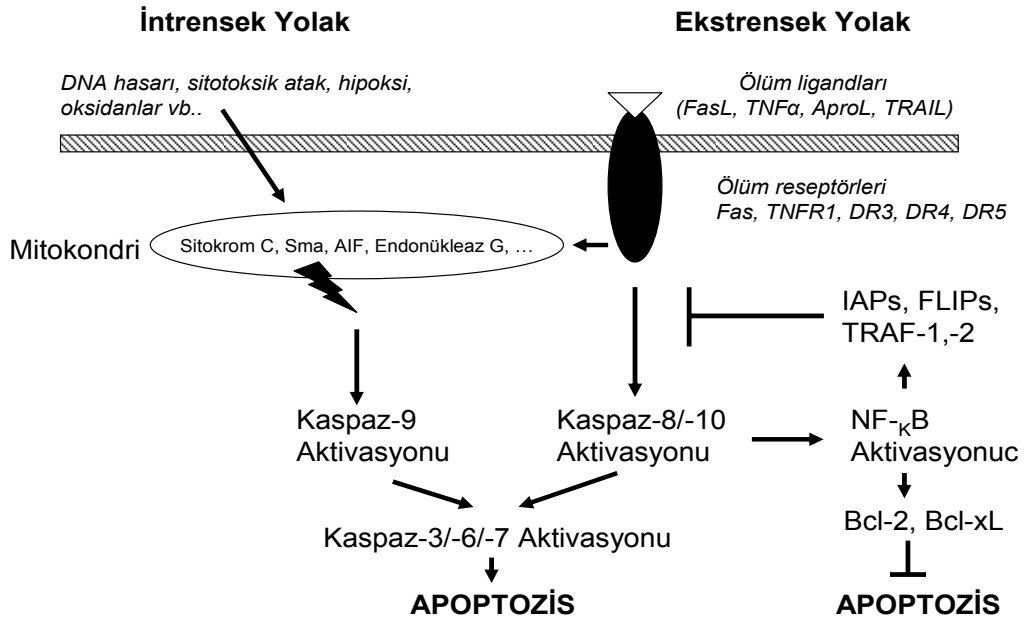
Mekanizmalar

Apoptoz, Fas Ligand (FasL), TNF α , metabolit kaybı, DNA hasarı, yada hipoksi gibi çeşitli faktörlerle aktive olur. Başlangıç fazı için sinyal gereklidir ve bu sinyaller ekstrensek reseptör aracılıklı yol veya intrinsek mitokondrial yolla oluşabilir. Her iki yolda aspartat-spesifik sistein proteazları (kaspazları) aktive ederek apoptozisi başlatırlar.

Kaspazlar sitoplazmada inaktif olarak bulunan, aktif merkezlerinde sistein bulunmasından dolayı sistein proteaz olarak adlandırılan bir grup enzimdir. Kaspaz kaskadı apoptozisin progresyonunda temel rol oynar. Bu güne kadar 14 kaspaz tanımlanmış ve bunlar başlatan kaspaz (initiator) ve ilerletici (effectör) kaspaz olarak sınıflandırılmıştır.

Başlatan kaspazlar Kaspaz 2, Kaspaz 8, Kaspaz 9, Kaspaz 10, Kaspaz 12 (C₂-C₈-C₉-C₁₀-C₁₂) dir. Apoptotik sinyal yolunun erken safhasında etki gösterirler ve apoptotik uyarıyla başlayan ölüm sinyallerini ilerletici kaspazlara iletirler (33-34-35).

KASPAZ MEKANİZMASI



Şekil 3: Apoptoziste kaspaz mekanizması

Effektör kaspazlar ise Kaspaz 3, Kaspaz 6, Kaspaz 7 (C₃-C₆-C₇) dir ve başlatan kaspazlar ile aktive olurlar, ilgili proteinleri parçalayarak apoptotik hücre morfolojisini meydana getirirler (33, 36, 37). İnhibitor of caspase-activated DNase (ICAD), poly ADP-ribose polymerase (PARP), Bcl-2, lamin ve çeşitli sitoskeleton bağlı proteinler gibi 100'ün üzerinde kaspaz substratı tespit edilmiştir. Bu proteinlerin parçalanması (cleavage) DNA fragmentasyonuna (37), DNA sentez ve onarımının inhibisyonuna (38), nukleer membranın bozulmasına, kromatin kondansasyonuna (39) ve sitoskeleton kollapsına (40, 41) neden olur.

Bir hücrede apoptozis mekanizması, hücre yüzeyi ölüm reseptörlerinin aktive edilmesi, mitokondriyal yolla tetiklenme, hücre dışından gelen etkiler veya hücre yaşlanması ile tetiklenebilir.

Ekstresek (ölüm reseptör aracılıklı) yol:

Değişik hücrelerin yüzeyindeki ölüm reseptörlerinin tutulması ile bu yol aktive olur. Hücre yüzeyi ölüm reseptörleri Tümör necrosis faktör reseptör

(TNFR) süperailisine ait transmembran proteinlerinin bir familyasıdır. Bu reseptörler hücre dışındaki bölgelerde tekrar eden sistein zengin bölgelerde yer alırlar. Ölüm reseptörleri sitoplazmanın iç kısmında 'ölüm bölgesi' (death domain) denen protein zincirleri taşırlar. Ölüm bölgeleri, ölüm reseptörlerine ligand bağlandığı zaman ölüm kompleksi meydana gelir ölüm kompleksi oluştuktan sonra prokaspas-8'in aktivasyonu ile (42) aktive olmuş kaspas-8 diğer kaspazların kaskad aktivasyonunlarını başlatır (43). Aktif kaspas-8'in bir proteaz kaskadı başlatması ile kaspaz-3, kaspaz-6, kaspaz-7 gibi apoptotik ölüm sinyalinin arttıran ilerletici kaspazlar aktif hale gelerek hücreyi apoptozise götürür (44). Böylece hücre dışından gelen uyarıyı hücre içine iletilmiş olur (44).

FasL/Fas, TNF- α /TNF receptor 1 (TNFR1), AporL/death receptor 3 (DR3) ve Apo2L (TRAIL)/death receptor 4 ve 5 (DR4, DR5) (44, 45) en iyi tanımlanmış ligand-reseptör ikililerindedir.

Fas: Lenfoid hücrelerde, hepatositlerde, bazı tümör hücrelerinde, akciğerde ve miyokarda bulunur. İlgili ligandı Fas ligand (FasL) ise TNF ailesinin bir üyesidir ve aktive olmuş T hücrelerinde predominant olarak eksprese edilen tip II membran proteinidir.

TNFR-1: Apoptozisi ya da hücre ölüm sinyallerini kontrol eder. Hücrede hangi yol aktif hale gelirse o yolda devam eder.

TRAIL (TNF related apoptosis inducing ligand veya APO-2L): DR4 ve DR5 ölüm reseptörlerinin farklı bir familyasına bağlanan bir moleküldür. DR4 ve DR5 birçok tümör hücresinden eksprese edilir. TRAIL'i FasL'den ayıran en önemli özellik normal hücrelerde değil malignan hücre serilerinde apoptozise neden olmasıdır. Örneğin melanoma hücrelerinde TRAIL apoptozisi induklemektedir (46, 47).

İntrensek (mitokondrial) yol

Mitokondriyal yolla hücrenin apoptozise uğraması öncelikle kaspazları aktive eden proteinleri içermesi nedeniyle çok önemlidir. Apoptozise ilişkin birçok mitokondrial protein, mitokondrilerin iç membranında bulunur. Apoptotik tetiklenmeye cevaben, mitokondrial proteinler sitoplazma ve/veya çekirdeğe salınarak mitokondriyal ve sitoplazmik apoptozisi kontrol eden proteinlerin etkileşimi sonucunda hücrenin yaşam ve ölüm dengesi sağlanır (48).

Sitotoksik ilaçlar, oksidanlar, radyasyon ve büyüme faktör eksikliği gibi hücrede stres oluşturan faktörler mitokondri dışı membran permabilitesini artırır. Bunun sonucunda mitokondri içeriğindeki sitokrom c, Smac, Apoptosis-inducing faktör (AIF), endonükleas G, ve bir serin proteaz olan Omi gibi çeşitli apoptojenik proteinler sitosole salınır (49).

Sitokrom c, apoptozis sırasında mitokondriden salındığında kaspaz aktivasyonunu başlatan, mitokondrial elektron zincirinin bir bileşenidir (50). Mitokondrial membran potansiyelinin bozulması ve ardından sitokrom c'nin salınması genel olarak mitokondriyal yolla tetiklenen apoptotik yolun erken fazında önemli rol oynar (51, 52, 53, 54). Sitokrom c'nin sitozole salınması ve apoptozisin başlaması için ilk kritik adımdır.

Sitokrom c mitokondriden salındığında kaspaz aktivasyonu başlaması sonucunda (prokaspaz-9'un aktivasyonu ile kaspaz-9'in ekspresyonu), sitokrom c Apaf-1'e bağlanır. Sitokrom c, kaspaz-9 ve Apaf-1'in oluşturduğu bu komplekse apoptozom adı verilir (55). Oluşan kompleks prokaspaz-3'ü aktive ederek, kaspaz kaskad yolunun aktive olması ile ilerletici kaspazlardan olan kaspaz-3'ün aktifleşmesini sağlar (56).

Genetik ve biyokimyasal çalışmalar **Bcl-2 protein ailesinin** apoptozisin düzenlenmesinde rol oynadığı göstermektedir (57). Hücrenin ölümüne veya canlı kalmasına karar veren, hücre dışından veya içinden salgılanan, apoptozis düzenleyici mekanizmaları bu ailenin üyeleridir. Bu nedenle, Bcl-2 ailesi, hücrenin apoptozisten korunmasını sağlayan anti-apoptotik üyeler ve apoptozisi başlatan veya neden olan pro-apoptotik üyelerden meydana gelir.

Anti-apoptotik üyeler: Mitokondri dışı zarı ile bağlantılıdır ve mitokondri bütünlüğünü korurlar-apoptotik üyeler, sitokrom c'nin salınmasını baskırlar. Sitokrom c'nin salınımı hücrede apoptozisin başladığının göstergesidir. Örneğin; *Bcl-2, Bcl-X_L, Bcl-w, Mcl-1, Bfl-1/A1, NR13, Boo/Diva/Bcl-2-L-10, Bcl-B* (58-59) bu ailenin üyelerindedir.

Pro-apoptotik üyeler: Mitokondri dışı zarı ile bağlantılıdır ve bu zarın bütünlüğünü bozarlar. Pro-apoptotik üyeler sitokrom c'nin mitokondriden sitoplazmaya salınımını tetikler. örneğin *Bak, Bax, Bid, Bad, Bim* (58, 59, 60).

Apoptozis Başlatıcı Faktör (AIF): Mitokondrinin iç membranında bulunan bir flavoproteindir (61, 62). Apoptozis başladığında AIF mitokondriden çekirdeğe geçer ve kromatin kondenzasyonu ile DNA fragmentasyonuna neden

olur (63). Bu etkiler kaspazlardan ve AIF'nin oksidoredüktaz aktivitesinden bağımsızdır (64, 65). AIF'nin çok fazla salınımı sonucunda, periferal kromatin kondenzasyonu, mitokondrial transmembran potansiyelinin kaybolması ve plazma zarında fosfotidilserinlerin ortaya çıkması ile DNA fragmentasyonu meydana gelir (64).

Endonukleaz G (EndoG): Mitokondride bulunan bir nükleazdır (66, 67). Kaspaz aktivasyonundan bağımsız olan EndoG aktivasyonu, nükleozomal DNA fragmentasyonuna neden olabilir (68). EndoG'nin salınımı, kaspaz aktivasyonuna paralel olarak apoptotik programı başlatabilir (69).

SMAC/ DIABLO Sitokrom c ile eş zamanlı olarak mitokondriden sitozole salınır (70, 71).

Omi/HtrA2 bir serin proteazdır (72, 73). Apoptozis süresince mitokondriden sitoplazmaya salınarak kaspaz-bağımlı ve kaspaz-bağımsız olarak fonksiyon görür (74, 75).

Salınan sitokrom c hızla Apaf-1 e bağlanarak kaspaz 9 u aktive eder. Bunu takiben kaspaz 3-6 yada kaspaz 7 aktive olur ve apoptozis gelişir (76, 77).

Smac ve Omi nin salınımı apoptozisi inhibe eden proteinleri (IAPs) etkisiz hale getirerek efektör kaspazları aktive eder (78, 79).

Apoptoz örnekleri

Büyüme faktör eksikliğinden sonra; hormon sensitif hücreler ve lenfositlerde, intrensek yol aracılığıyla apoptozis gelişir.

DNA hasarı sonrası; Radyasyon ve kemoterapötik ajanlar DNA hasarı yaparak ve p53 oluşturarak apoptozise neden olur.

Tümör nekroz faktör ailesinden reseptörlerle gelişen apoptozis; Fas (CD95) reseptörleri ve ligandlarının birleşimi yoluyla gelişir.

Sitotoksik T lenfosit aracılıklı apoptozis; Perforin ve granzim B yanı sıra FasL ile apoptozis oluşur.

Disregüle apoptoz birçok hastalığın komponenti olarak görülür. Esas olarak iki grup hastalık disregülasyonla ortaya çıkar.

Apoptozun inhibe olduğu ve artmış hücre yaşamının olduğu hastalıklar. Uygunsuz olarak apoptozis hızının azalması anormal hücrelerin yaşam süresini artırır. Örnek olarak;

- 1) Kansere: özellikle p53 mutasyonlarında artış veya meme, over, prostat gibi hormon bağımlı tümörlerle birliktelerse
- 2) otoimmün hastalık: şayet otoreaktif lenfositler immün yanıtın sonra taşınmazsa otoimmün hastalık oluşumunda artış oluşturabilirler.

Artmış apoptozis ve aşırı hücre ölümü ile birliktelik gösteren hastalıklar. Bu hastalıklar normal veya koruyucu hücrelerin kaybı ile karakterizedir. Örnek;

- 1) Nörodejeneratif hastalıklar; Spinal kaslar atrofide olduğu gibi spesifik nöron grubu kaybı ile birliktedirler.
- 2) İskemik hasar; miyokard infarktüsü veya şok gibi
- 3) Virüslerin oluşturduğu lenfosit eksikliği; AIDS de olduğu gibi.

Apoptosis ve akciğer hasarı

Akciğer endotel, epitel hücresi, fibroblast ve inflamatuvar hücreler gibi çok çeşitli hücreler içeren kompleks bir organdır. Apoptosis akciğer hasarını geliştirdiği hücre tipine göre artırabilir yada azaltabilir.

Yapılan çalışmalar PMNL apoptozisinin eksikliğini yada azalmasının inflamatuvar yanıtı uzattığını ve akut akciğer hasarı sonrası ARDS ye gidişi kolaylaştırdığını göstermektedir (80,81). Akciğer dokusunda Fas alveolar ve bronşial epitelyum hücre yüzeyinde, clara hücrelerinde, alveolar makrofajlarda ve myofibroblastlarda bulunurken Fas-L nötrofil ve lenfositlerde bulunur. İnsanlardaki ALI (Akut Akciğer Hasarı) yada ARDS gibi alveolar epitel hücre hasarı ile gelişen hastalıklar Fas/Fas-L sisteminin lokal artışı ve alveolar epitel hücrelerinde apoptotik kaskadın aktivasyonu ile birliktedir (82). Ayrıca yapılan çalışmalar İdiopatik Fibrozisli Akciğer Hastalarında epitel hücre apoptozisi ve nekrozunun arttığını göstermektedir (83). Fas/Fas-L sisteminin indüklediği epitel hücre apoptozisi akciğer fibrozisini stimüle eder (84, 85, 86).

II.3-Alfa-2 Adrenoreseptör Agonistleri:

α_2 -adrenerjik agonistlerin sınıflandırılması

α_2 -adrenerjik agonistler 3 grupta toplanabilir;

- 1 -Feniletilaminler (alfa metilnorepinefrin)
- 2- İmidazolinler (klonidin, dexmedetomidin)
- 3- Oxaloazepinler (azepexole) (87).

1948'de Ahlquist adrenoreseptörleri alfa ve beta olmak üzere, iki subgruba ayırmıştır. 1968'de Londs ve ekibi de alfa ve beta reseptörleri alfa 1, alfa 2 ve beta 1, beta 2 olmak üzere subtiplere ayırmışlardır (88). Alfa-2 adrenoreseptörler hem presinaptik hem de postsinaptik yerleşim göstererek, hem inhibitör, hemde eksitatör etki oluşturabilmektedir (89).

α_2 -adrenoreseptörler santral sinir sistemi, periferik sinirler (somatik ve otonomik) ve otonom ganglionlarda bulunurlar. Özellikle sempatik afferentlerle inerve olan dokular olmak üzere tüm vücutta dağılmışlardır.

Postsinaptik α_2 -adrenoreseptörler, ayrıca vasküler düz kas gibi efektör organlarda da bulunurlar. Radyoligant bağlama tekniği ve moleküler biyoloji kullanılarak insanlarda, farelerde, sıçanlarda α_2A , α_2B , α_2C olarak bilinen 3 alt grup bulunmuştur (90, 91). Bu 3 alt grup reseptör, 7 kat membran segmentli, G protein bağlantılı reseptörlerdir (91, 92). Hücresel düzeyde her 3 alt grupta bu G1/G0 sinyal sistemi ile bağlantılıdır. Tüm α_2 -adrenerjik reseptörler adenilat siklazı inhibe ederek etki gösterirler. cAMP'deki azalma, cAMP'ye bağlı protein kinazın stimülasyonunda azalmaya neden olur ve sonra da hedef düzenleyici proteinin fosforilasyonunda azalma ile sonuçlanır. Ancak bir çok durumda, cAMP'deki bu azalma α_2 -adrenoreseptörlerin etkilerinden tam olarak sorumlu değildir. Potasyumun aktive olmuş kanallardan dışarıya doğru akması uyarılabilir membranları hiperpolarize edebilmekte ve suprese olmuş nöronlarda etkili bir uyarıya neden olabilmektedir. α_2 -adrenoreseptör stimülasyonu kalsiyumun sinir terminallerine girişini de süprese ederek nörotransmitterlerin salınımını inhibe edebilmektedir (89, 93, 94).

Reseptör alt grupları arasındaki en önemli fonksiyonel farklılığın reseptörlerin çeşitli dokulardaki spesifik dağılım paterni olduğu düşünülmektedir. Deksmetomidin, fare beyinde doza bağımlı olarak cGMP üretimini azaltır

(95). Son araştırmalar noradrenalin salınımını dzenleyen otreseptörlerinin çoğunluğunun α_2A alt grubuna ait olduğunu göstermektedir (96). İnsitu hybridizasyon yöntemi kullanılarak memeli santral sinir sisteminde α_2 -adrenoreseptör alt gruplarının tespit edilen lokalizasyonuna göre; α_2B reseptörlerinin dağılımı talamusta sınırlı kalırken, α_2A ve α_2C alt grupları tüm beyin dokularına dağılmıştır (91, 97). Locus ceruleusta yüksek seviyelerde α_2 alt grubunun bulunması, bu reseptörlerin, Locus ceruleusta lokalize olan noradrenerjik hücrelerin aktivitesini inhibe etmedeki rolünü desteklemektedir (91).

α_2 -adrenoreseptör ve opioid reseptör agonistleri, benzer farmakolojik etkiler gösterirler. Mü opioid agonistleri (fentanil) ve α_2 -agonistler (klonidin) farklı nöronal reseptörleri etkilemelerine karşın, analjezi ve sedasyonda benzer terapötik etki gösterirler. Çünkü bu reseptörlerin beyindeki lokalizasyonları benzerdir ve ortak postreseptör mekanizmalara sahiptirler. Her iki reseptörde G proteinlerini etkileyerek aynı mekanizmayı harekete geçirirler. G proteinleri, nöronal membranlardaki K^+ kanallarını açarlar. Postsinaptik membrandaki K^+ kanallarının açılması hücre dışına K^+ çıkışına neden olur ve böylece hücre hiperpolarize olur. Bu durumda hücre eksitatuvar uyarılara cevap vermez. Nöron repolarize olur ve sonuç olarak transmitter salınımı olmaz (94, 98).

Sonuçta α_2 -adrenoreseptörler ve Mü opioid reseptörleri ;

1-Beyinde aynı lokalizasyonda, muhtemelen aynı ve benzer nöronlarda yerleşim gösterirler.

2-Aynı "spinal transducer"e bağlanabilirler.

3-Bu "spinal transducer" mekanizması da aynı efektör mekanizmaya (K^+ kanalı) bağlıdır (99).

α_2 -adrenoreseptörlerin aracılık ettiği fizyolojik olaylar:

Nöroendokrin Sistem: α_2 -adrenerjik agonistleri, sempatoadrenal akımı inhibe ederler. Böylece klonidin verilmesi ile dolaşımdaki norepinefrin miktarı azalır ve katekolamin metabolitlerinin idrardaki miktarı azalır (98). α_2 agonistler, Langerhans adacıklarına direkt etki ile insülin salınmasını inhibe ederler. Klinik olarak, bu etki oldukça kısa sürdüğünden hiperglisemiye yol açmaz. α_2 agonistler büyüme hormonu salınımını da arttırırlar. Bu etkilerinin mekanizması

tam olarak bilinmemesine karşın, büyük olasılıkla hipofiz hücrelerindeki postsinaptik etki ile açıklanmaktadır (100).

Kardiyovasküler Sistem: Vasküler postsinaptik α_1 ve α_2 reseptörler hem arteriyal hem de venöz damarlarda yer alırlar ve sinirsel uyarılardan bağımsız olarak vazokonstriktif etki gösterirler. Bu reseptörlerin aktivasyonu ile hücre içine kalsiyum girişi gerçekleşir ve sonuçta hücre içi kalsiyum vazokonstriksiyonu sağlar. α_2 -agonistler, endotelial kaynaklı gevşetici faktörlerin salgılanmasında rol oynadıkları için α_2 -adrenoreseptörlerle ortaya çıkan vazokonstrüktör cevabın invivo olarak gösterilmesi oldukça zordur.

α_2 -agonistler kalpte;

1-Santral olarak sempatik tonusu azaltırlar (Santral sinir sisteminde postsinaptik reseptöre etki ile)

2-Sempatik sinir terminalinden noradrenalin salınımını azaltırlar.(presinaptik sempatik sinir terminali reseptörüne etkiyle).

3-Belirgin olarak koroner kan akımını değiştirirler (vasküler reseptörlere etki ile ve santral olarak sempatik akımın azaltılmasıyla)(101). Böylece miyokardın oksijen ihtiyacını azaltırlar. α_2 -agonistler miyokard infarktüsü ve iskemisi tedavisinde de kullanılmaktadır (101).

Solunum Sistemi: İnsanlarda yapılan çalışmalarda, opioidlerle karşılaştırıldığında α_2 -agonistlerin minör respiratuar etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca opioidlerle α_2 -agonistler arasında solunum depresyonları etkisi açısından herhangi bir sinerjizm bulunamamıştır (102, 103).

Renal Sistem: Hayvanlar üzerinde yapılan tüm deneysel çalışmalarda, α_2 -agonistlerin diüzezi arttırdıkları gözlenmiştir. Örneğin α_2 -agonistler insanlarda ADH salınımını inhibe ederken sıçanlarda bu etki gözlenmemiştir. ADH'nun renal tübülülere olan etkisi α_2 -agonistlerce bloke edilir. α_2 -agonistlerin glomerüler filtrasyon hızını arttırdığı düşünülmüş fakat bu etkinin mekanizması anlaşılammıştır. Bu etkinin renin salınımı inhibisyonu ve atrial natriüretik peptidin salınımının kolaylaşması ile ilgili olduğu düşünülmektedir (87, 103).

Gastrointestinal Sistem: Tükrük salınımı alfa 2 agonistler tarafından azaltılmaktadır. Presinaptik α_2 -adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu parietal hücrelerden vagal uyarımla gerçekleşen gastrik asit salınımının inhibe olmasına yol açar. Buna rağmen insanlarda gastrik pH'da herhangi bir değişiklik olmamaktadır. α_2 -agonistler ayrıca vagal uyarı ile meydana gelen mide ve ince bağırsak hareketlerini de azaltmaktadır (87, 99, 104).

Hematolojik Sistem: Bir α_1 ve α_2 agonisti olan epinefrin, insanda trombosit agregasyonu yapar. Bu etki daha çok α_2 -reseptörlerle olmaktadır. α_2 -agonistlerin sistemik kullanımında ikili etki ortaya çıkar;

1- direkt trombosit agregasyonunun artışı

2- plazma epinefrinini azaltarak trombosit agregasyonunun azaltılması (87).

Santral Sinir Sistemi: α_2 -adrenerjik agonistler sedasyon yaparlar. EEG'de uykunun 1. ve 2. evrelerini uzattığı ve REM'i kısalttığı gösterilmiştir. Klonidin düşük dozda anksiyolitik (α_2 etki) yüksek dozda ise anksiyojenik (α_1 etki) etkilidir (bifazik etki). α_2 -adrenerjik agonistler bellek üzerine de etkilidirler, belleği artırıcı etkisi vardır. α_2 -adrenerjik agonistlerin güçlü analjezik etkileri vardır (87, 94).

α_2 -adrenerjik agonistlerin imidazolin gurubundan dexmedetomidini kısaca özetlersek,

II.4- Deksmetomidin:

Deksmetomidin hidroklorid (preceks®) kimyasal olarak, (+)-4-(S)-[1-(2,3-dimetilfenil)etil]-1H-imidazol monohidroklorid şeklinde düzenlenmiştir. Moleküler ağırlığı 236.7'dir; ampirik formülü C₁₃H₁₆N₂.HCL şeklindedir (105).

Deksmetomidin α_2 -adrenoreseptörler için yüksek selektivitesi gösterilmiş lipofilik bir ajan olan Medetomidinin aktif d-izomeridir (106,107,108). Deksmetomidin α_2 -adrenoreseptörlere klonidinden daha selektiftir (α_2 -adrenoreseptör/ α_1 -adrenoreseptör selektivite oranı deksmetomidin 1600/1;

klonidin 220/1)(109). Bu nedenle santral sinir sistemi üzerine daha selektif etkilidir (110).

Deksmedetomidin hidroklorid pH'ı 4.5-7 arasında berrak, renksiz, izotonik bir solüsyondur. 1 mL'si, 118 µg'lık deksmedetomidin hidroklorid (100 µg baz deksmedetomidine eşdeğer) ve 9 mg sodyum klorid içermektedir. Bu solüsyonda koruyucu bulunmaz ve solüsyon aditif veya kimyasal stabilizatör içermez (105).

Deksmedetomidinin Etki mekanizması

Deksmedetomidinin ana farmakolojik ve teröpatik etkilerinin çoğunu α_2A adrenoreseptör alt grubu oluşturmaktadır (94). Sempatik sinir sonlanmalarında lokalize olan presinaptik α_2 -adrenoreseptörlerin stimülasyonu norepinefrin salınımını inhibe eder (111). Santral sinir sistemindeki postsinaptik reseptörlerin α_2 -agonistler ile aktivasyonu sempatik aktiviteyi ve kan basıncı ile kalp hızını azaltır. Bu da anksiyetenin giderilmesi ve sedasyona yol açarken, deksmedetomidinin spinal korddaki α_2 -adrenoreseptörlere bağlanması analjezi sağlar (112,113). Ayrıca deksmedetomidin anesteziyi destekleyici özellikler gösterir. Örneğin, deksmedetomidinin 0,6 ng/ml'lik hedef plazma konsantrasyonu izofluranın MAC değerini %47 azaltır. Bu durum noradrenerjik sistem aktivitesinin depresyonu ile MAC azalması hipoteziyle tutarlı gözükmemektedir (114).

Farmakokinetiği ve metabolizması

Yapılan hayvan çalışmalarında gösterilmiştir ki (fare, tavşan ve köpek) subkutan veya intramuskuler uygulamadan sonra deksmedetomidin hızla absorbe olarak en yüksek plazma konsantrasyonuna 1 saat içinde ulaşır. Dağılım yarı ömrü kısa (ort.6 dak) ve kararlılık durumundaki dağılım volümü yaklaşık 118 lt olarak bulunmuştur. Köpeklerde iv ve im uygulamadan sonra ortalama plazma eliminasyon yarı ömrü 0,68-1,31 saat arasında değişmektedir (115,105). Ortalama olarak %93.7 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Cinsiyet ve renal disfonksiyon bu oranı etkilemez. Ama karaciğer disfonksiyonu olanlarda plazma proteinlerine bağlanmada değişiklikler olabilir (105). Deksmedetomidin karaciğerde yoğun biyotransformasyona uğrar. %95

oranında idrarla, %4 feçesle atılır. Atılan temel metabolitleri N-Glukuronitler ve N-metil-O-Glukronittir. Deksmetomidinin terminal eliminasyon yarı ömrü yaklaşık iki saattir, bilinen aktif metaboliti yoktur (105).

Sistemler üzerine etkileri

Kardiyovasküler sistem: Deksmetomidinin kardiyovasküler sistem üzerine etkileri doza bağlıdır. Deksmetomidin doza bağımlı olarak plazma norepinefrin konsantrasyonlarını azaltır (112), kalp hızı ve kan basıncının da doza bağımlı olarak azaltır (116). Bir çalışmada deksmedetomidin 1 mcg/kg infüzyon dozu 6 sağlıklı erkek gönüllüde 2 dak. uygulanmış, kalp hızında % 17 ve kan basıncına % 23'lük anlamlı maksimal bir azalma meydana gelmiştir (117).

Deksmetomidin, endotrakeal entübasyon, cerrahi stres, anesteziden uyanma ve erken ayılmaya karşı oluşan katekolamin cevaplarını; etkili bir şekilde baskılayarak hemodinamik stabilite sağlar (118,119).

Kan damarındaki periferik α_2B reseptörleri, vasküler düz kas kontraksiyonunu düzenler. Böylece deksmedetomidin gibi nonselektif α_2A , α_2B agonistlerinin hızlı iv injeksiyonu bradikardiyle ilişkili olarak SVR artışı sonucu kan basıncında başlangıçta bir artış oluşturur. Bu etki geçici ve santraldir. Çünkü sempatik aktivite, agonist kan beyin bariyerini geçince inhibe olur (120).

Respiratuar sistem: Deksmetomidinin solunum sistemi üzerine minimal etkileri vardır. Spontan soluyan köpeklerde PaCO₂ yi az miktarda arttırmaktadır. Bu da solunum depresyonu yapan anesteziklere göre önemli bir avantajdır (121). Bir faz I çalışmasında (hedef plazma konsantrasyonu 0,3 g/L-1,25 g/L) 24 saat iv deksmedetomidin infüzyonu alan gönüllülerde respiratuar depresyon meydana gelmemiş, oksijen saturasyonu tüm bireylerde %90 üzerinde bulunmuştur (118). Belleville ve ark.(122) yaptıkları çalışmada, opioid Mü reseptörlerinin aksine, santral ventilasyon kontrolüne katılan nöral yolların üzerinde, α_2 -reseptörlerin direkt etkisinin fazla olduğu gösterilmiştir. Non-REM uyku eğrilerinde bir azalmaya sebep olmuştur. Bu çalışmada deksmedetomidin ile PaCO₂ de ılımlı bir artış gözlenmiş, deksmedetomidin infüzyonunu izleyen ilk 1 saatte dahi solunum sayısındaki küçük değişikliklerle beraber, dakika ventilasyonunda düşüş olmuştur. Arter kan gazı ölçümleri klinik olarak normal limitler içinde kalmıştır (121,122). Çift kör, plasebo kontrollü insanlarda yapılan

bir çalışmada da solunum sayısında minimal bir değişiklikle dakika ventilasyonunda bir azalma ve PaCO₂ de bir artış olmuştur. Deksmetomidin başlangıcından 10 dak. sonra PCO₂'deki maksimal artış 41,9 mmHg' dan 46,1 mmHg'ya başlangıçtan 10 dak. sonra çıkmış (p<0,05) ve daha sonra yavaşça geri dönmüştür. Dakika ventilasyonundaki ılımlı azalma 60. dak.'dan sonra meydana gelmiştir (8,7lt/dak. 6,3lt/dak, p<0,05) (121).

Sedatif, anesteziye yardımcı ve analjezik etkileri

Deksmetomidin premedikasyonda kullanılarak anksiyolitik, sedatif, analjezik ve sempatotik özelliklerinden faydalanılabilir (109).

İntraoperatif periodda kullanılarak laringoskopi, entübasyon ve cerrahi yanıtı bağı sempatoadrenal stres yanıtını azaltır (123). Hemodinamik stabilizasyon sağlar. İntraoperatif anesteziklerin etkisini potansiyalize eder. Böylece daha az dozda anestezi ve opioid kullanılır. Bu da derlenme ve hastanede kalış süresini kısaltır. Postoperatif analjezik ihtiyacı azalır.

Klonidin rejyonel anestezi ve analjezide kullanılan adjuvan ilaçlardandır. Deksmetomidinle ilgili çok çalışma olamamakla birlikte doza bağımlı olarak klonidinle benzer etkileri olduğu gösterilmiştir (124).

Deksmetomidin sedatif, anksiyolitik, analjezik etkilerinden ve solunum depresyonu oluşturmaması nedeniyle yoğun bakımda iyi bir tercihtir. Ancak önceden mevcut derin bradikardisi, iletim problemleri olan hastalarda, ventriküler fonksiyonları azalmış hastalarda, hipovolemik ve hipotansif hastalarda dikkatli kullanılmalıdır. Deksmetomidin sempatik aktiviteyi baskılayarak kan basıncı ve kalp hızında azalmaya neden olur. İnfüzyon kesildiğinde bu etkileri ortadan kalkar.

Yan etkileri

α₂ agonistler hem preoperatif kullanımda hemde hipertansiyon tedavisinde sempatotik etkiyle sinüs bradikardisi oluştururlar. Bazen de atriyoventriküler bloğa neden olabilirler. Ancak bu yan etkiler atropin kullanımı ile azaltılabilmektedir (89,125).

Deksmetomidin plasentadan geçmektedir. Çocuk ve gebelerde güvenirliliği kesin değildir (126).

III. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deney, Hayvan Etik Kurul'unun 2006-059 protokol numaralı onayı alındıktan sonra Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi Laboratuvarında, ağırlıkları 180-220 gr arasında değişen, Wistar albino cinsi, 32 erişkin erkek rat üzerinde gerçekleştirildi. Tüm gruplara ksalazin/ketamin kombinasyonu ile İM enjeksiyon uygulanarak anestezi verildi.

Ratlar randomize olarak 4 eşit guruba ayrılarak Suematsu'nun (127) düzeneğine benzer bir şekilde 20 gouge branül ile intraperitoneal alana girilerek, üçlü musluk ve tansiyon aletinin manşonu yardımıyla 12-15 mmHg intraabdominal basınç artışı sağlandı ve 2 saat süreyle spontan solunuma bırakıldı. İki saatin sonunda ratların (femoral bölgelerine uygulanan diseksiyon yardımıyla) femoral ven yada kuyruk venlerinden;

Grup 1 (**K**- Kontrol grubu) = ratlarda İAB artışı sağlandı, herhangi bir işlem yapılmadı.

Grup 2 (**SF**-Serum Fizyolojik) = ratlarda İAB artışı sağlandı, 2 saat sonra İV 1cc %0.9 NaCl puşe uygulandı.

Grup 3 (**Deksmedetomidin 0.2 µg/kg**) = ratlarda İAB artışı sağlandı, 2 saat sonra İV 0.2 µg/kg dexmedetomidin puşe uygulandı.

Grup 4 (**Deksmedetomidin 0.7 µg/kg**) = ratlarda İAB artışı sağlandı, 2 saat sonra İV 0.7 µg/kg dexmedetomidin puşe uygulandı.

İntravenöz enjeksiyonlardan 30 dakika sonra derin anestezi altında olan ratlar organlarının alınmasından sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

Histolojik Değerlendirme

Akciğer dokuları direkt %10' luk formalin solüsyonu içerisinde 24-48 saat süre ile tespit edildikten sonra rutin parafin takip işlemine tabi tutuldu ve alınan kesitler dokunun morfolojisini incelemek amacıyla hematoksilen-eozin ile boyanır iken, diğer kesitler apopitotik hücrelerin belirlenmesi için TUNEL yöntemi, kapsaz ve FasL dağılımlarını göstermek amacı ile indirect immünohistokimya teknikleri ile incelendi.

Parafin doku takibi: Tespit edilen akciğer dokuları, fiksatiflerin uzaklaştırılmaları amacıyla 1 gece akar su altında yıkandıktan sonra, dehidratasyon amacıyla 15'er dakika %60'dan %95'e artan etil alkol serilerinden geçirildi. Ardından 15 dakika 1:1 oranında ksilen-alkol karışımına ve şeffaflaştırma amacıyla 15'er dakika iki değişim ksilene tabi tutuldu. 60°C'lik etüv içerisinde 15 dakika 1:1 oranında ksilen-parafin uygulanıp 30'ar dakika parafin ile immersiyonu sağlandıktan sonra dokular parafin bloklar içerisine gömüldü.

Hematoksilen-Eozin boyaması: Rotary mikrotom (RM 2135, Leica) aracılığı ile alınan 5µ' luk parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C' lik etüvde bırakıldıktan sonra, 30' ar dakikalık iki değişim ksilene tabi tutuldu. Ardından rehidrasyon işlemi için %95' den %60' a azalan oranlarda alkol serilerinden geçirilen kesitler 5 dk akar su altında yıkandı. 2 dk hemotoksilen (01562E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) ile boyamanın ardından, fazla boyanın dokudan uzaklaştırılması için 5 dk akar suda yıkanma yapıldıktan sonra sırasıyla %80 ve %95' lik alkol serilerinde geçirilip havada kurutulan kesitler şeffaflaştırma amacıyla 30' ar dk iki değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

TUNEL Boyaması: Bu teknik için Dead-End Colorimetric TUNEL system kiti (Apoptag, Peroksidase Insitu Detection Kit, 90419, Chemicon, Temecula, CA) kullanıldı. Kesitler boyama için bir gece 60°C' lik etüvde tutulduktan sonra, 30' ar dk iki değişim ksilen ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Ardından azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak fosfat tampon solüsyonunda (PBS: Posphate buffer solution) 5 dk yıkandı. Daha sonra oda sıcaklığında 15 dk 20 µg/ml proteinase K ile inkübe edilen kesitler 3 defa 5' er dk PBS ile yıkandı. Endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dakika %3'lük H₂O₂ (TA-015-HP, Lab vision, Fremont, CA) uygulanan kesitler PBS ile oda sıcaklığında 10 dakika yıkandı. Equilibration tampon solusyonu ile oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilen kesitler, TdT enzimi ile 37 °C de 1 saat bekletildi. Kontrol boyama kesitleri TdT enzimi konmayıp, sadece reaksiyon solusyonunda bekletildi. Daha sonra kesitler oda sıcaklığında 10 dakika

tampon solüsyonu ile, 3 defa 5'er dakika PBS solüsyonu ile yıkandı. Anti-digoxigenin konjugat solüsyonu ile 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilen kesitler 4 defa 5'er dakıda PBS ile yıkandı. TUNEL reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacı ile kesitler 5 dakika diaminobenzidine (DAB) ile boyandı. Distile su ile yıkandıktan sonra Mayer's hematoksilen ile artalan boyaması sağlanan kesitler %80 ve %95'lik alkollerde dehidratasyon ve 30 dk ksilen ile şeffaflaştırma işleminden sonra entellan ile kapatıldı. TUNEL pozitif hücre sayımı iki histolog tarafından ayrı zamanlarda Image-Pro Plus 5.1.2 hücre sayım programında her gruptan her bir denkten alınan kesitlerde en az 5 farklı alanda boyalı ve boyanmayan hücreler belirlenerek sayım yapıldı.

İndirek İmmunohistokimya boyaması: Alınan akciğer kesitleri immunohistokimyasal boyama için bir gece 60 C°'lik etüvde tutulduktan sonra, 30'ar dakika iki saat değişim ksilen ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Ardından %95'ten %60'a azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dakika bekletildi. Dakopen (IM3580, Immunotech, France) ile sınırlandırılan % 0,5'lik tripsin solüsyonu içinde oda sıcaklığında 15 dakika tutulan kesitlere, doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dk %3'lük H₂O₂ uygulandı. 3 defa 5'er dakika PBS; ile yıkanan kesitler 1 saat bloklama solusyonu (TA-125-UB, Lab Vision, Fremont, CA) ile muamele edildi. Bloklama solusyonu dokudan uzaklaştırıldıktan sonra primer antikolar anti-kaspaz-3 (NB 600-1235, Novus Biologicals Littleton USA), anti-kaspaz-8 (NB 600-576, Novus Biologicals Littleton USA), anti-kaspaz9 (ab32539, ABCAM, Cambridge, UK), anti-Fas Ligand (NB 600-1236, Novus Biologicals Littleton USA) ile bir gece inkübe edildi. Kesitler anti-kaspaz-3 ve anti-kaspaz-8 ile inbüke edilmeden önce 10 Mm sitrat buffer ile mikrodalga fırında 5 dakika 360 V da ısıtıldı. Ertesi gün tampon solüsyonu ile 3 defa yıkanan kesitler, biotinylated anti-mouse ve anti-rabbit, conjugated streptavidin-horsedish peroxidase solüsyonları ile (KP-50L Univarsal HRP İmmunostaining Kit) 30'ar dakika boyandı. Her bir ikincil antikor 3 defa 5'er dakika tampon solüsyonu ile yıkandı. İmmunohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla kesitler DAB ile 5 dk boyandı. Mayer's hematoksilen (72804E, Microm, Walldorf, Germany) ile artalan boyaması sağlandıktan sonra distile su ile 10 dk yıkanan

kesitler kapatma medyumu (00-8030 Hismount mountain Solution, San Francisco, USA) ile kapatıldı.

İstatistiksel Değerlendirme

Renk ayrımı kullanılarak sayım yapılan histolojik kesitlerde Image-Pro Plus sayım programı kullanıldı. Elde edilen TUNEL ve immunohistokimyasal veriler nonparametrik ANOVA testi kullanılarak karşılaştırıldı. Mean±SEM olarak verilen değerlendirmelerin karşılaştırılmasında $p < 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

Histokimyasal İnceleme

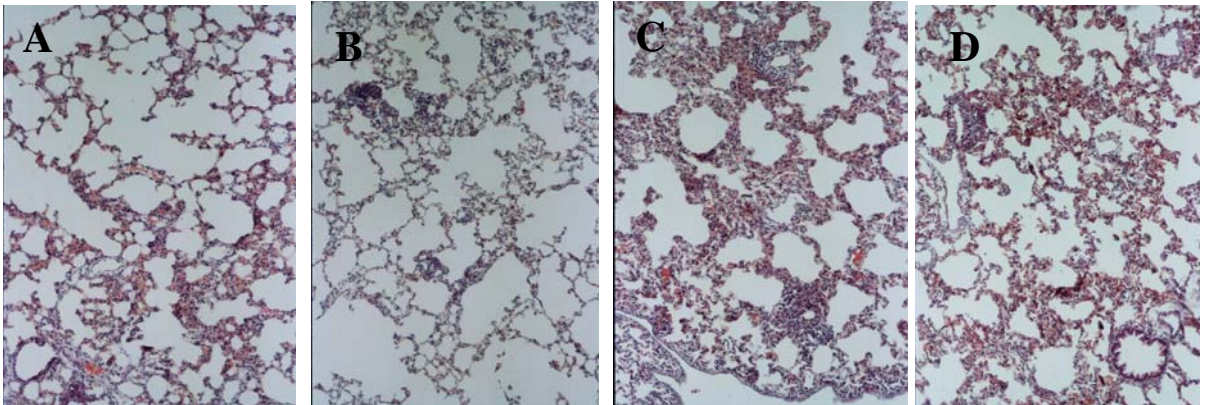
Akciğer dokusunun H-E ile boyandıktan sonra incelenmesi sonucunda; Kontrol grubunda, atelektazik görüntülerin periferde daha fazla olmakla birlikte yer yer merkezi bölgelere doğru ilerlediği gözlemlendi (resim 1A)

SF grubunda, merkezi kısımlarda daha fazla olmak üzere PMNL infiltrasyonu olduğu ve bu bölgelerde interalveolar kısımların kalınlaştığı gözlemlendi (resim 1B).

Dexmedetomidin 0.2 µg/kg grubunda, PMNL infiltrasyonunun daha çok damar çevrelerinde kümelenmeler şeklinde yoğunlaştığını, interalveolar kalınlaşmanın daha az olduğu gözlemlendi. Histolojik değişikliklerin diğer gruplara oranla daha az olduğu ve atelektazik değişikliklerin olmadığı gözlemlendi (resim 1C).

Dexmedetomidin 0.7 µg/kg grubunda, PMNL infiltrasyonunun diğer gruplara oranla daha fazla olduğu ve interalveolar kalınlaşmanın göreceli olarak bu grupta daha fazla olduğu belirlendi (resim 1D).

Tüm gruplarda tip I, tip II alveolar hücreler ile respiratuar ve terminal bronşoller histolojik olarak normal yapıda değerlendirildi



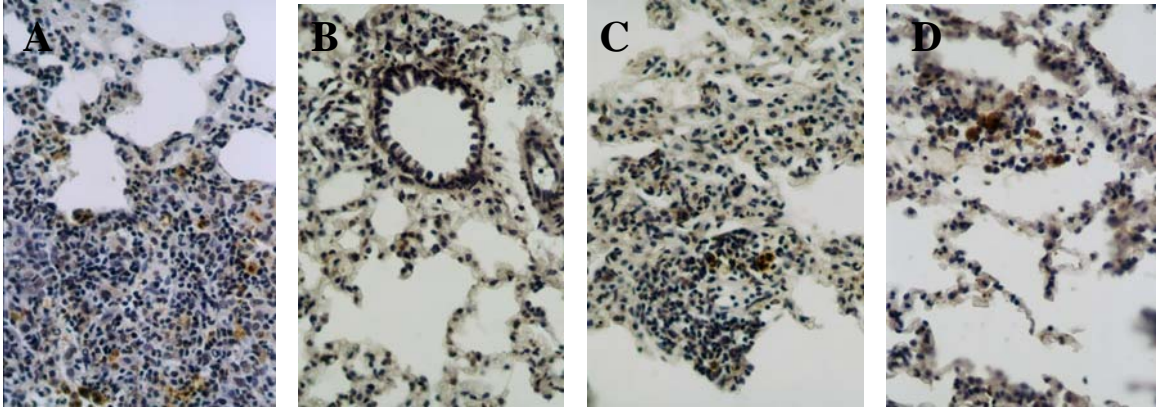
RESİM 1: Kontrol (A), SF (B), Dexmedetomidin 0.2 µg/kg (C) ve Dexmedetomidin 0.7 µg/kg (D) sol üst akciğer dokusundan alınan kesitlerin Hemotoksilen-Eozin (H-E) boyası ile değerlendirilmesi. X100

TUNEL Tekniği ile İnceleme

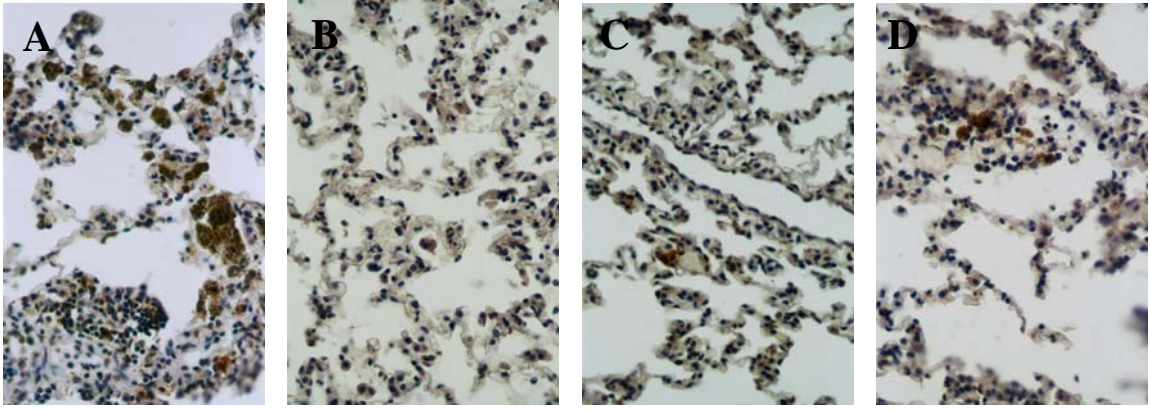
TUNEL boyaması sonucunda kesitler üzerinde DAB kromojeni ile kahverengiye boyanmış olan çekirdekler TUNEL pozitif olarak kabul edildi. İmage-Pro Plus (Version 5.1.2, MediaCybernetics, MD, USA) ile renk ayrımı belirlenerek yapılan sayım sonucunda, hematoksilen ile boyanan çekirdekler (mavi) normal olarak değerlendirildi ve her bir gruptan kesitlerdeki farklı alanlarda kahverengi ve mavi çekirdekler ayrı ayrı seçilerek oranları elde edildi ve % olarak hesaplandı.

TUNEL tekniği ile inceleme sonucunda;

Kontrol grubunun diğer üç grubun sayımlarına oranla daha fazla olduğu ve istatistiki olarak anlamlı fark olduğu gözlemlendi ($P < 0.001$). Bununla beraber kontrol sağ alt kısımda akciğer dokusunda TUNEL pozitif hücrelerin sol üst akciğer dokusuna oranla daha fazla olduğu ve bu değerlerinde istatistiki olarak anlamlı olduğu saptandı ($P < 0.001$) (Resim 2A-3A). Serum fizyolojik, dexmedetomidin 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ve dexmedetomidin 0.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ gruplarının gruplar arasında ve kendi içlerinde karşılaştırıldığında TUNEL pozitif hücrelerin bulunduğu, fakat elde edilen değerlerin istatistiki olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi ($P > 0.05$) (Resim 2B-2C-2D-3B-3C-3D) (Tablo 3).



RESİM 2: Kontrol (A), SF (B), Dexmet 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (C) ve Dexmet 0.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (D) sol üst akciğer dokusundan alınan kesitlerin TUNEL boyaması ile değerlendirilmesi. X400

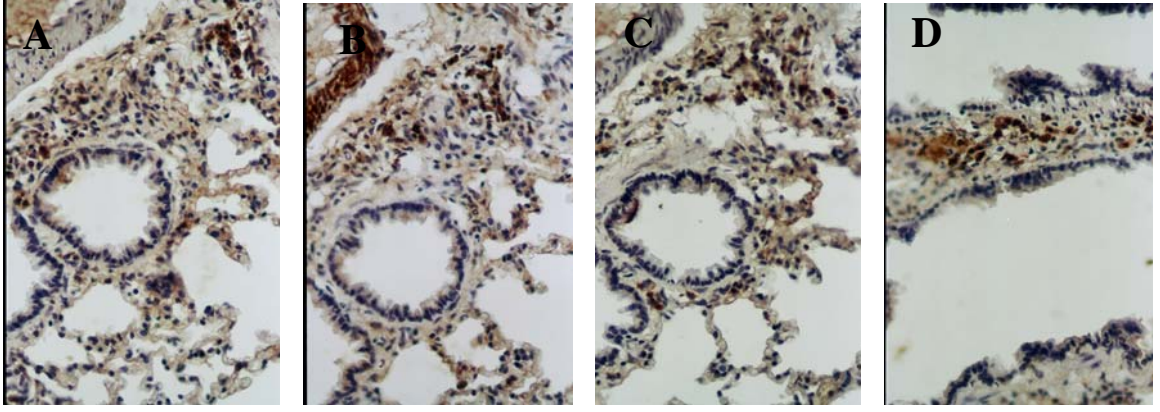


RESİM 3: Kontrol (A), SF (B), Dexmedetomidin 0.2 µg/kg (C) ve Dexmedetomidin 0.7 µg/kg (D) sağ alt akciğer dokusundan alınan kesitlerin TUNEL boyaması ile değerlendirilmesi. X400

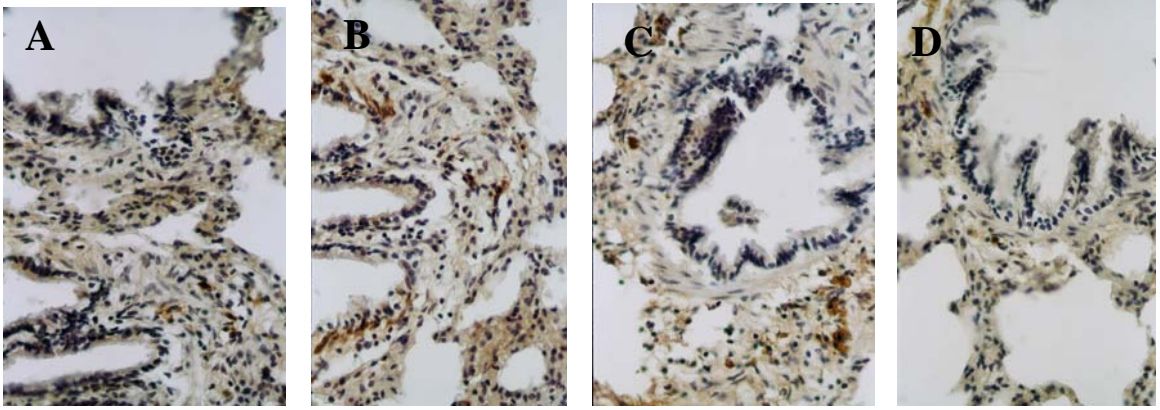
İmmunohistokimya Sonuçlarının Değerlendirilmesi

İndirekt immunohistokimya tekniği kullanılarak kaspaz-3, 8, 9 ve Fas Ligand immunoreaktivitelerinin dağılımları incelendi. Boyama sonucunda kesitler pozitif immunoreaktivite DAB kromojeni ile kahverengi olarak belirlendi. İmage-Pro Plus sayım programı ile kahverengi bölgeler işaretlenerek alanları hesaplandı. Boyanmayan veya çekirdeklerin boyandığı mavi alanlar sayımın dışında bırakıldı.

Elde edilen alan hesaplarının değerlendirilmesi sonucunda; Kontrol grubunda, immunohistokimyasal olarak değerlendirme sonucunda, sağ alt ve sol üst kısımlardan alınan kesitlerde kaspaz-3 immunoreaktivitesinin, kaspaz-8, kaspaz-9 ve FasL immunoreaktivitelerinden daha az olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.001$). Sol akciğer üst kesitlerdeki kaspaz-3 ile kaspaz-8 ve FasL immunoreaktivitelerinin istatistiki olarak anlamlı olmadığı ($p > 0.05$), kaspaz-9 ile karşılaştırmaların ise istatistiki olarak anlamlı olduğu ($p < 0.001$) saptandı. (Tablo 3) (resim 4A-4B-4C-4D-5A-5B-5C-5D) Pozitif immunoreaktiviteler daha çok interalveolar alandaki hücrelerin sitoplazma, çekirdek ve/veya hücre membranında idi.

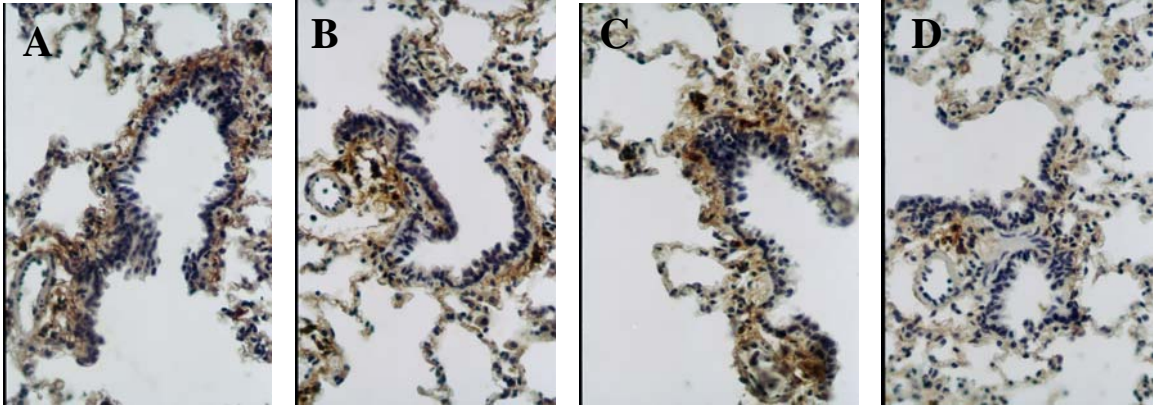


RESİM 4: Kontrol grubunda sol üst akciğer dokusundan alınan kesitlerde kaspaz-3 (A), kaspaz-8 (B), kaspaz-9 (C) ve FasL (D) immunoreaktivitelerinin dağılımı. X400.

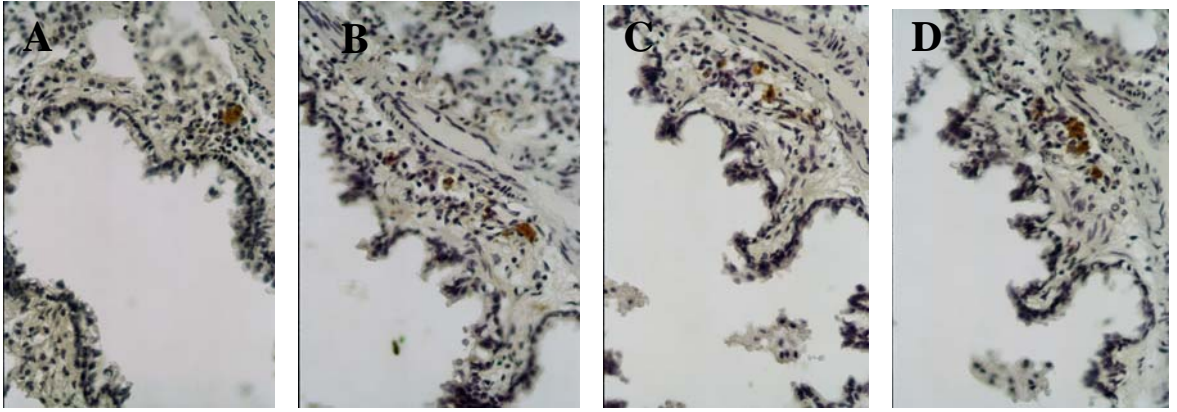


RESİM 5: Kontrol grubunda sağ alt akciğer dokusundan alınan kesitlerde kaspaz-3 (A), kaspaz-8 (B), kaspaz-9 (C) ve FasL (D) immunoreaktivitelerinin dağılımı. X400.

Serum fizyolojik grubunda, immunohistokimyasal olarak değerlendirme sonucunda, sağ alt ve sol üst kısımlardan alınan akciğer kesitlerinde kaspaz-3, 8, 9 ve FasL immunoreaktivitelerinin interalveolar alandaki hücrelerde pozitif olduğu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı şekilde azalmış olduğu ($p < 0.001$), SF grubu içerisindeki dağılımlarının ise istatistiki olarak anlamlı olmadığı ($p > 0.05$) saptandı. (Tablo 3) Pozitif immunoreaktiviteler hücrelerin sitoplazma, çekirdek ve/veya hücre membranında gözlemlendi. (resim 6A-6B-6C-6D-7A-7B-7C-7D)



RESİM 6: SF grubunda sol üst akciğer dokusundan alınan kesitlerde kaspaz-3 (A), kaspaz-8 (B), kaspaz-9 (C) ve FasL (D) immunoreaktivitelerinin dağılımı. X400.

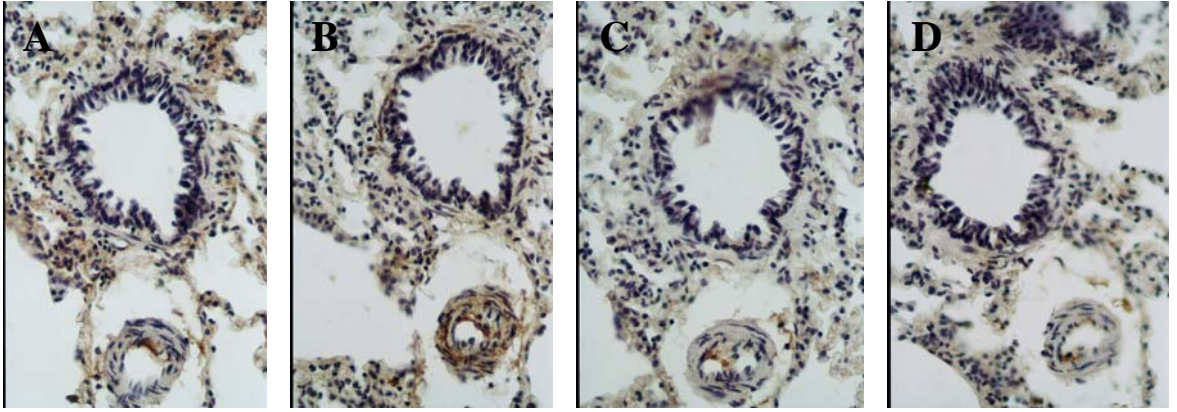


RESİM 7: SF grubunda sağ alt akciğer dokusundan alınan kesitlerde kaspaz-3 (A), kaspaz-8 (B), kaspaz-9 (C) ve FasL (D) immunoreaktivitelerinin dağılımı. X400.

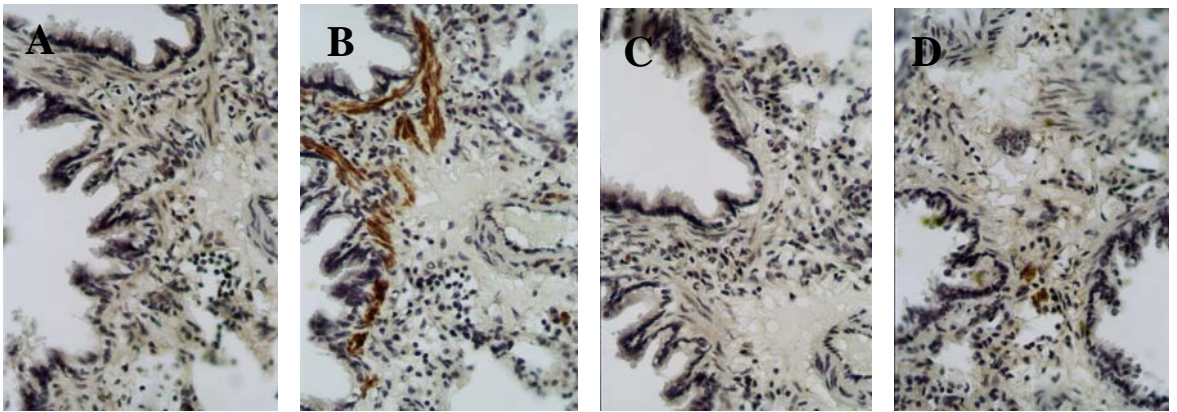
Dexmedetomidin 0.2 µg/kg grubunda, sağ alt ve sol üst akciğer kesitlerinde immunohistokimyasal dağılımlar incelendiğinde özellikle kaspaz-8 immunoreaktivitesinin her iki grupta diğer antikorlara oranla daha fazla olduğu, sağ alt akciğerde ise kaspaz-8 immunoreaktivitesinin kaspaz-3 , 9 ve FasL' a göre çok daha fazla olduğu ve istatistiki olarak ta anlamlı olduğu saptandı ($p<0.001$) (Tablo 3) (resim 8A-8B-8C-8D-9A-9B-9C-9D). Dexmedetomidin 0.2 µg/kg grubunda özellikle kaspaz-8 in artmış, kaspaz-3 immunoreaktivitesinin göreceli olarak daha az artmış olması, dexmedetomidin 0.2 µg/kg dozu uygulandığında akciğer hücrelerinde apoptozisi geciktirdiği

(çünkü kaspaz-3 immunoreaktivitesi çok az), ama apoptozisin başlamış olduğu ve apoptotik yoldan ekstrensek yolağın kullanıldığını desteklemektedir.

Sağ alt akciğer kesitlerinde kaspaz-3 ve kaspaz-8 immunoreaktivitelerinin kaspaz-9 ve FasL immunoreaktivitelerine oranla daha fazla olması, karın içi basıncının artırılması sonucunda apoptotik yolda ekstrensek yolağın kullanıldığını ve kaspaz-3 immunreaktivitesinin artmış olmasında apoptozisin kesinleştiğini ve geri dönüşün olmayacağını desteklemektedir. (resim 8A-8B-8C-8D)

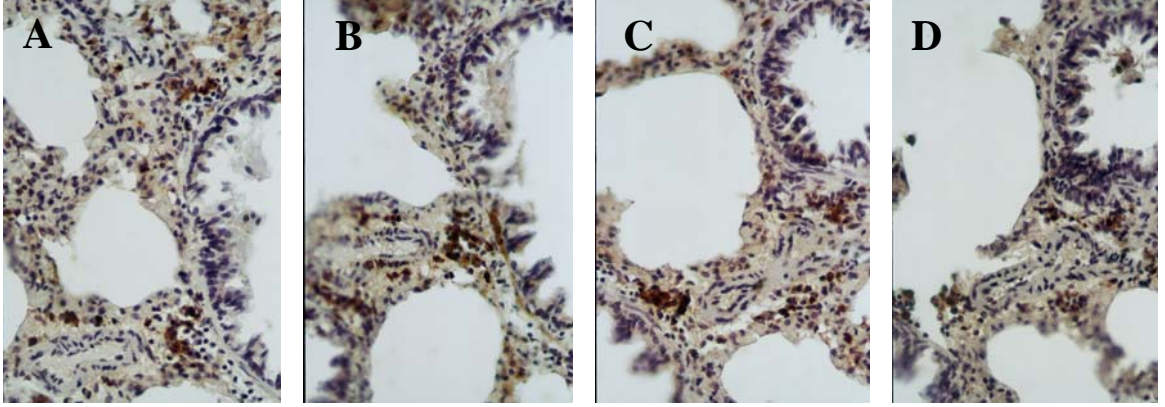


RESİM 8: Dexmedetomidin 0.2 µg/kg grubunda sol üst akciğer dokusundan alınan kesitlerde kaspaz-3 (A), kaspaz-8 (B), kaspaz-9 (C) ve FasL (D) immunoreaktivitelerinin dağılımı. X400

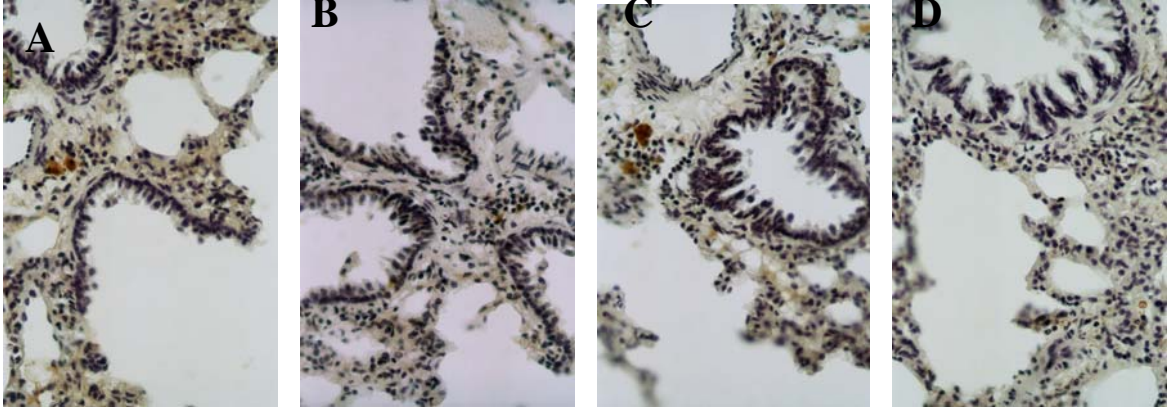


RESİM 9: Dexmedetomidin 0.2µg/kg grubunda sağ altt akciğer dokusundan alınan kesitlerde kaspaz-3 (A), kaspaz-8 (B), kaspaz-9 (C) ve FasL (D) immunoreaktivitelerinin dağılımı. X400.

Dexmedetomidin 0.7 µg/kg grubunda, sol üst akciğerdeki kaspaz-3, 8, 9 ve FasL immunoreaktivitelerinin sağ alt akciğer grubundaki immunoreaktivitelere oranla daha fazla olduğu ama aynı grup içerisindeki immunoreaktivitelerinin karşılaştırılmasında ise istatistiki olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). (resim 10A-10B-10C-10D-11A-11B-11C-11D)

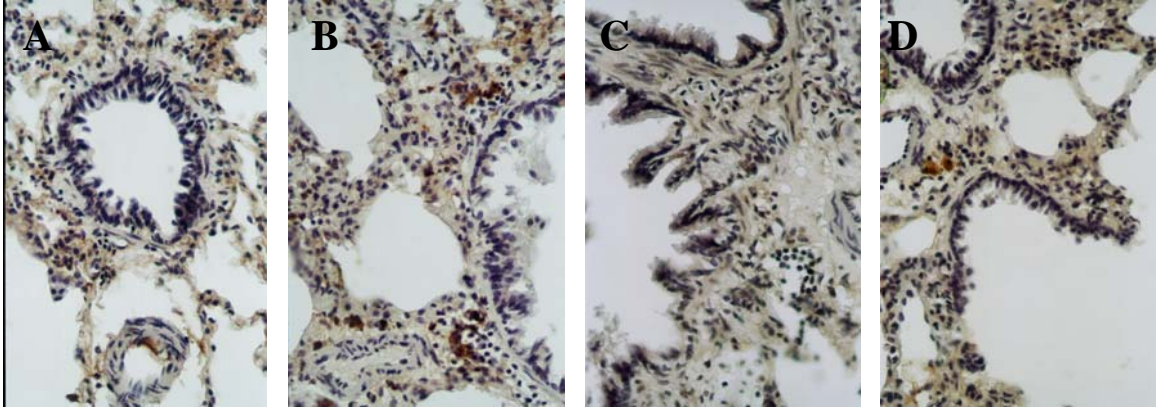


RESİM 10: Dexmedetomidin 0.7µg/kg grubunda sol üst akciğer dokusundan alınan kesitlerde kaspaz-3 (A), kaspaz-8 (B), kaspaz-9 (C) ve FasL (D) immunoreaktivitelerinin dağılımı. X400.



RESİM 11: Dexmedetomidin 0.7µg/kg grubunda sağ alt akciğer dokusundan alınan kesitlerde kaspaz-3 (A), kaspaz-8 (B), kaspaz-9 (C) ve FasL (D) immunoreaktivitelerinin dağılımı. X400.

Kaspaz 3 immunoreaktivitesinin 0.7 µg/kg yüksek doz dexmedetomidin uygulanan grupta 0.2 µg/kg/dk düşük doz dexmedetomidin uygulanan gruba oranla daha fazla olduğunun saptanması üzerine, düşük doz dexmedetomidin tedavisinin akciğerlerde apoptozisi geciktirdiği sonucuna varıldı (resim 12A-12B-12C-12D)



RESİM 12: Dexmedetomidin 0.2 µg/kg grubunda (A) ve Dexmedetomidin 0.7µg/kg grubunda (B) sol üst akciğer dokusundan alınan kesitler ile Dexmedetomidin 0.2µg/kg grubunda (C) ve Dexmedetomidin 0.7µg/kg grubunda (D) sağ alt akciğer dokusundan alınan kesitlerde kaspaz-3 immünoreaktivitesinin karşılaştırılması

Dexmedetomidin yüksek doz uygulamasındaki immunoreaktivitelerinin dağılımlarının kontrol grubuna oranla daha azalmış olduğu, fakat dexmedetomidin düşük doz uygulanmış grubundaki dağılımlarına göre ise daha fazla olduğu gözlemlendi (Tablo 3).

Tablo 3: Tüm gruplarda akciğer dokusunda immunohistokimyasal değerlendirilme.

Gruplar	TUNEL %	Kaspaz-3	Kaspaz-8	Kaspaz-9	FasL
K-sağ alt	17.69±1.47*	84.46±2.52	271.98±35.82	235.26±8.54	291.24±8.54
SF-sağ alt	1.64±0.04	10.92±0.31 [‡]	21.26±1.34	11.85±0.73	6.07±0.15
Dexmed. 0.2sağ	0.75±0.04	4.96±0.19	51.03±1.62 ^β	2.22±0.24	5.27±0.39
Dexmed. 0.7-sağ	2.16±0.11	5.67±0.76	8.24±0.20	3.78±0.31	2.52±0.26
K-sol üst	5.58±0.34	165.86±2.48**	198.83±4.79	234.74±30.84	159.91±1.70
SF-sol üst	1.40±0.89	33.47±1.99 [‡]	35.38±2.51	44.56±1.95	27.99±2.43
Dexmed. 0.2-sol	0.48±0.01	16.42±0.93	18.21±0.56	13.40±0.28	10.17±0.49
Dexmed. 0.7-sol	1.21±0.04	20.12±0.91	16.37±0.29	25.91±2.04	21.85±0.66

*p<0.001 : Tunal incelemesinde tüm gruplarla karşılaştırılmasına göre

** p<0.001: Kaspaz-9 ile karşılaştırıldığında

[‡] p<0.001:Kontrol grubu ile kaspaz-3,8,9 ve FasL karşılaştırılması

^β p<0.001 : Kaspaz-3, 9 ve FasL ile karşılaştırıldığında

V. TARTIŞMA

İntraabdominal basınç artışı ile diyafragmanın pasif olarak yükselmesi, intraabdominal basıncı plevral kaviteye yansıtarak statik ve dinamik akciğer kompliansını ve aynı zamanda torasik kompliansı azaltır. Deksmetomidin sedatif, anksiyolitik, analjezik etkilerinden ve solunum depresyonu oluşturmaması nedeniyle yoğun bakımda iyi bir tercihtir. Bu çalışmada intraabdominal basınç artışı sağlanan deneysel rat modelinde düşük doz deksmedetomidin sedasyonu uygulandığında akciğer hücrelerinde apoptozisi geciktirdiği ama apoptozisin başlamış olduğu ve apoptotik yoldan ekstresek yolağın kullanıldığını saptadık. Kaspaz 3 immunoreaktivitesinin yüksek doz dexmedetomidin uygulanan grupta düşük doz dexmedetomidin uygulanan gruba oranla daha fazla olduğunu saptanması üzerine, düşük doz dexmedetomidin tedavisinin akciğerlerde apoptozisi geciktirdiği sonucuna vardık.

Gudmundsson ve ark.(128) çalışmalarında İAB artışı sağlanan domuzlarda kontrol gurubuna göre akciğer kompliyansında azalma ve hava yolu basıncında artma olduğunu, İAB 20 mmHg'da hipoksi yada hiperkarbi görmezken, 30 mmHg olan domuzlarda yavaş yavaş pO₂ de azalma ve pCO₂ de artış olduğunu ve hayvanlarda minimal asidoz geliştiğini gördüler. İAB arttığında, intratorasik basıncın arttığı (129,130), torasik volüm (131) ve akciğer kompliyansındaki(132,133,134) değişikliklerin diafragma elevasyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir. Mutoh ve ark. (131) ise İAB arttırılmış domuzlarda total akciğer kapasitesi, rezidüel volüm ve fonksiyonel rezidüel kapasite de değişiklikler olduğunu ortaya koymuşlardır. Ridings ve ark (129). İAB 25 mmHg ya arttırılmış domuzlarda pO₂ da anlamlı düşme pCO₂ basıncında anlamlı artış olduğunu saptamışlardır Bizim çalışmamızda intraabdominal basınc artışının özellikle kontrol gurubunda başta olmak üzere tüm gruplarda makroskopik görüntülerde atelektazik alanlar ile histolojik kesitlerde de inflamatuvar değişikliklere neden olduğunu gördük. Kontrol grubunda, atelektazik görüntülerin periferde daha fazla olmakla birlikte yer yer merkezi bölgelere doğru ilerlediği gözlemlendi.

Fas/Fas-L aracılı apoptosiz akut akciğer hasarına ve ARDS ye neden olabilir. Akciğer dokusunda Fas alveolar ve bronşial epitel hücre yüzeyinde, clara hücrelerinde, alveolar makrofajlarda ve myofibroblastlarda bulunurken Fas-L nötrofil ve lenfositlerde bulunur. İnsanlardaki ALI yada ARDS gibi alveolar epitel hücre hasarı Fas/Fas-L sisteminin lokal artışı ve alveolar epitel hücrelerinde apoptotik kaskadın aktivasyonu ile birlikte (82). Fas/Fas-L kusurlu ratlarda daha az akut akciğer hasarı olduğu gösterilmiştir (135).

Kaspaz aktivitesinin inhibisyonu PMNL ile indüklenen akut akciğer hasarını azaltır (135). Akut akciğer hasarında PMNL ler akciğer dokusunu infiltre edebilir. Çalışmalarda PMNL ler invitro olarak apoptosize uğratıldığında makrofajların apoptotik PMNL leri fagosite ettiği ve artmış PMNL apoptosizinin inflamasyonu azaltabildiği gösterilmiştir (80,81). Matute-Bello ve ark. (136) yaptıkları çalışmalarında ARDS li ve ARDS riski olan hastaların bronkoalveolar lavaj (BAL) örneklerinde az miktarda apoptotik PMNL bulunduğunu ortaya koymuşlardır. Bununla birlikte GMC-SF gibi antiapoptotik faktörlerinde var olması nedeniyle ARDS li hastaların BAL örneklerinde apoptozis oranı azalmış ve normal insan PMNL lerinin yaşamı uzamıştır. Bu çalışmalar PMNL apoptozisinin eksikliğini yada azalmasının inflamatuvar yanıtı uzattığını ve akut akciğer hasarı sonrası ARDS ye gidişi kolaylaştırdığını göstermektedir. Bu sonuçlar Fas/Fas-L sistemini indüklediği apoptosiz akut akciğer hasarı oluşumuna katkı sağladığını gösterir. Fas/Fas-L sistemini indüklediği epitel hücre apoptosiz akciğer fibrozisini stimüle eder (84). Bizim çalışmamızda ise İAB artışı sağlanmış ratlarda sağ alt akciğer kesitlerinde kaspaz-3 ve kaspaz-8 immunoreaktivitelerinin kaspaz-9 ve FasL immunoreaktivitelerine oranla daha fazla olması, karın içi basıncının artırılması sonucunda apoptotik yolda ekstresek yolağın kullanıldığını ve kaspaz-3 immunreaktivitesinin artmış olmasında apoptozisin kesinleştiğini ve geri dönüşün olmayacağını desteklemektedir.

Dexmedetomidin hem kooperatif sedasyon sağlama, hem de refleks bronkokonstrüksiyonu azaltması nedeniyle yoğun bakım hastalarında iyi bir ajandır. Köpeklerde intravenöz yoldan verilen dexmedetomidin, aerosol histamin ile indüklenen bronkokonstrüksiyonu bloke eder. Buna karşılık

dexmedetomidin inhalasyon yoluyla verildiğinde, önemli derecede bir bronkokonstrüktör yanıtı neden olur (137).

β_2 -adrenerjik ve identifiye edilen üç tip muskarinik reseptörler yanında α_1 ve α_2 adrenerjik reseptörler de bronşial mukozada ve parasempatik bronşial ganglionda gösterilmiştir (138, 139, 140, 141). Bununla birlikte β_2 adrenerjik ve muskarinik reseptörler hava yolu hastalıklarının farmakolojik tedavisinde başarılı hedeflerdir. α adrenerjik reseptörlerin hava yolunda ki fonksiyon ve ilgileri spekülattır. Ancak α_1 adreno reseptör stimülasyonu ile bronkokonstrüksiyon geliştiği, bronkokonstrüksiyonun α_1 adreno reseptör antagonistleri ile bloke edilebildiği gösterildi (142, 143). Buna karşılık Grundtröm ve ark. (138) α_2 adrenerjik reseptörlerin parasempatik yanıtı ayarlayarak bronkokonstrüksiyonu inhibe ettiklerini gösterdiler. (141, 143, 144, 145) β_2 ve α_1 adreno reseptör blokajı sırasında noradrenalin ile stimülasyon bronşial halkaların konstrüksiyonunu α_2 adrenerjik reseptörlerin üzerinden tamamen bloke edebilir ve bu etki α_2 adreno reseptör antagonisti yohimbin ile antagonize edilebilir (144). Benzer etkiler *invivo* olarak insanlarda egzersiz ile indüklenen bronkokonstrüksiyon sırasında β_2 ve α_1 adreno reseptörler bloke edildiğinde α_2 adreno reseptör fonksiyonlarının değişmediği görüldü (137). Dexmedetomidinin respiratuar yönetim üzerine baskılayıcı etkileri 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ve üstü dozlarda görülmektedir (146). Groeben ve ark. (137) yaptıkları çalışmada 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dexmedetomidin ile refleks bronkokonstrüksiyonun tamamen bloke edildiğini göstermişlerdir. Çalışmamızda yoğun bakım sedasyonu için önerilen minimum ve maksimum doz uygulamasını karşılaştırmayı da hedeflemiştik. Düşük doz olan 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dexmedetomidin uygulanan grupta histolojik değişikliklerin diğer gruplara oranla daha az olduğu ve atelektazik değişikliklerin olmadığı gözlemlendi. Yine immünohistokimyasal olarak dexmedetomidin 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dozu uygulandığında akciğer hücrelerinde apoptozisin geciktiği (çünkü kaspaz-3 immunoreaktivitesi çok az), ama apoptozisin başlamış olduğu saptandı. Dexmedetomidin 0.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ grubunda ise PMNL infiltrasyonun diğer gruplara oranla daha fazla olduğu ve interalveolar kalınlaşmanın göreceli olarak bu grupta daha fazla olduğu belirlendi. İmmünohistokimyasal olarak ise Kaspaz 3 immunoreaktivitesinin 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ düşük doz dexmedetomidine uygulanan gruba oranla daha fazla olduğunun saptanması üzerine, düşük doz dexmedetomidin tedavisinin akciğerlerde apoptozisi geciktirdiği sonucuna vardık. Dexmedetomidin

sedasyonu akciğer apoptozisi üzerine etkilidir, düşük doz uygulamasında apoptozisin oluşumunu geçirtmektedir.

Takumi ve ark. (147) endotoksin ile inflamatuvar yanıt oluşturulan ratlarda dexmedetomidinin TNF- α ve IL-6 nın plazma konsantrasyonundaki artışı azalttığını, *invivo* olarak da dexmedetomidinin nötrofillerin akciğerlerde infiltrasyon ve agregasyonunu azalttığını gösterdiler. *İn vitro* ortamda bir α_2 agonist olan paminoklonidinin IL-6 üretimini baskıladığını (148) ve klonidinin monositlerde TNF- α üretimini baskıladığı gösterilmiştir (149). Ayrıca α_2 adrenerjik agonistler makrofajlarda lipopolisakkaritlerin indüklediği TNF- α üretimini düzenlerler (150). Bir klinik çalışmada dexmedetomidinin postoperatif hastalarda IL-6 artışı azalttığı belirtilir (151).

Buna karşılık Nishina ve ark. (152) dexmedetomidinin klinik dozlarının *invitro* olarak nötrofil kemotaksisine yada fagositozuna etkisi olmadığını, CO₂ artışına respiratuvar yanıtı ve resting ventilasyonu deprese ettiğini ama hipoksi yada hiperkapniyi indüklediğini göstermişlerdir. Bizde çalışmamızda dexmedetomidin yüksek doz uygulamasındaki immunoreaktivitelerin dağılımlarının her ne kadar dexmedetomidinin düşük doz uygulanmış grubundaki dağılımlarına göre daha fazla olsa da kontrol grubuna oranla daha azalmış olduğunu gözledik. (Tablo 3).

Dexmedetomidin normal ratlarda solunumun mekanik parametrelerini yada akciğer histolojisini değiştirmez. Fakat yüksek dozlarda hiperkapni ve hipoksi ile birlikte solunum depresyonu yapabilir (153). Bizim çalışmamızda İAB artışı modeli oluşturulduktan sonra özellikle kontrol grubunda olmak üzere tüm gruplarda histolojik olarak, daha çok periferde olmak üzere atelektazik görüntülerle birlikte PMNL infiltrasyonu ve interalveolar septumda kalınlaşma olduğunu gördük. Bu görüntüler istatistiksel farklılık taşımamakla birlikte medikasyon uygulanmayan kontrol grubunda, dexmedetomidin uygulanan rat gruplarına göre daha fazlaydı.

Dexmedetomidinin major yan etkisi bradikardidir (137, 153, 154). Bu değişiklik parasempatik aktivite artışı, santral yolda locus ceruleus ta adrenoresptörlerin inhibisyonu yada nöro efektör bileşkede noradrenalin salınımının azalmasına bağlı olabilir (153). Önceki çalışmalarda intravenöz 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ dexmedetomidin infüzyonunun hayvanlarda düzensiz solunum ve kısa süreli apne dönemlerine neden olduğu gösterildi (154). Benzer şekilde Belleville

(146) şışman erkek hastalarda 1-2 µg/kg/h dexmedetomidin infüzyonu ile apne periodları geliştiğini rapor etmiştir. Buna ters olarak Ebert ve ark.nın apne gözlememeleri muhtemelen bolus dozdan kaçınmalarına bağlıdır (126). Bizim çalışmamızda da dexmedetomidin uygulanan her iki grupta da solunum parametrelerinde belirgin farklılık gözlemedik. Düşük doz dexmedetomidin uygulanan grupta histolojik değişikliklerin diğer gruplara oranla daha az olduğu ve atelektazik değişikliklerin olmadığı gözlemlendi. Dexmedetomidin yüksek doz grubunda ise PMNL infiltrasyonun diğer gruplara oranla daha fazla olduğu ve interalveolar kalınlaşmanın göreceli olarak bu grupta daha fazla olduğu belirlendi. Nishida ve ark. (153) dexmedetomidinin hem solunum frekansını hem de tidal volümü azalttığını ama sadece fekanstaki azalmanın 1-30 µg/kg doz aralığında doz bağımlı olduğunu, yüksek dozların frekans üzerine olan etkisinin tidal volüm üzerine olan etkilerden daha şiddetli olduğunu belirtir

Sepsis ve septik şoktaki yoğun bakım hastaları ağrı, anksiyete ve sepsise bağlı organ spesifik yanıtı bağı olarak yüksek derecede strese maruz kalırlar. Bu hastaların tedavi yönetiminde önemli amaç yeterli düzeyde analjezi ve sedasyon sağlayabilmektir. Takumi ve ark. (147) çalışmalarında dexmedetomidinin septik hastalarda sedasyon ve analjezi sağlarken akciğerlerde inflamatuvar yanıtı da baskılayabileceğini gösterdiler

Bizde düşük doz dexmedetomidin grubunda inflamatuvar yanıtın ve atelektazik oluşumların hem kontrol hemde serum fizyolojik grubuna göre daha azalmış olduğunu, aksine yüksek doz dexmedetomidin grubunda ise artmış olduğunu saptadık.

Deneysel rat modeli ile de gösterilmiştir ki; intraabdominal basınç artışı akciğer hücrelerinde apoptozise sebep olmaktadır. Düşük doz dexmedetomidin sedasyonu uygulandığında akciğer hücrelerinde apoptozisin geç başladığını ve apoptotik yolak olarak da ekstremsel yolağın kullanıldığını tespit ettik. Kaspaz 3 immunoreaktivitesinin düşük doz dexmedetomidin verilen grupta daha az olması, 0.2 µg/kg dexmedetomidin uygulamasının akciğerlerde apoptozisi geciktirdiği anlamı taşımaktadır.

Yoğun bakım hastalarında karın içi basıncının düzenli olarak değerlendirilmesi gerekliliği genel olarak kabul görmeye başlamıştır. Bu amaçla ucuz ve sonuçların güvenilir olduğu bildirilen bir yöntem ile tarama ve takip

yapılması intra abdominal hipertansiyon veya abdominal kompartman sendromunun erken tanınması ve tedavisinin yönlendirilmesi şansını doğuracaktır. Abdominal kompartman sendromunun, akciğerler üzerine olumsuz etkileri bilinen bir gerçektir. Bu grup yoğun bakım hastalarında, düşük doz dexmedetomidin sedasyonu uygulamasının akciğer patolojilerinin önlenmesinde olumlu katkıları olabileceği sonucuna vardık.

VI.SONUÇ

İntraabdominal basınç artışı nedeniyle gelişen akciğer apoptozisi üzerine dexmedetomidin düşük ve yüksek doz uygulamalarının etkilerini araştırmak üzere yaptığımız çalışmamızda intraabdominal basınç artışının başta kontrol grubunda olmak üzere tüm gruplarda makroskopik görüntülerde atelektazik alanlar ile histolojik kesitlerde de inflamatuvar değişikliklere neden olduğunu gördük. Ayrıca immünohistokimyasal incelemelerde sağ alt akciğerden aldığımız kesitlerde kaspaz-3 ve kaspaz-8 immunoreaktivitelerinin kaspaz-9 ve FasL immunoreaktivitelerine oranla daha fazla olması, karın içi basıncının artırılması sonucunda apoptotik yollardan ekstremsel yolağın kullanıldığını ve kaspaz-3 immunreaktivitesinin artmış olmasında apoptozisin kesinleştiğini ve geri dönüşün olmayacağını düşündürmüştür..

Çalışmamızda düşük doz 0.2 µg/kg dexmedetomidin uygulanan grupta histolojik değişikliklerin diğer gruplara oranla daha az olduğu ve atelektazik değişikliklerin olmadığını gözledik. İmmünohistokimyasal olarak dexmedetomidin 0.2 µg/kg dozu uygulandığında akciğer hücrelerinde apoptozisin geciktiği ama apoptozisin başlamış olduğunu saptadık. Dexmedetomidin 0.7 µg/kg grubunda ise PMNL infiltrasyonun diğer gruplara oranla daha fazla olduğu ve interalveolar kalınlaşmanın göreceli olarak bu grupta daha fazla olduğu belirlendi. İmmünohistokimyasal olarak ise kaspaz 3 immunoreaktivitesinin 0.2 µg/kg düşük doz dexmedetomidine uygulanan gruba oranla daha fazla olmasına rağmen tüm immünoaktivitelerin yüksek doz dexmedetomidin grubunda kontrol grubuna oranla daha azalmış olduğunu gözledik.

Tüm bu sonuçların ışığında düşük doz dexmedetomidin tedavisinin akciğerlerde apoptozisi geciktirdiğini düşündük.

Yoğun bakım hastalarında, intraabdominal basınç artışı ve devamında abdominal kompartman sendromu gelişmesi nadir olmayan bir durumdur. İntraabdominal basınç artışının akciğer üzerine olan olumsuz etkileri ve bu hastaların sedasyon ihtiyacı göz önüne alındığında düşük doz dexmedetomidin sedasyonu uygulamasının akciğer patolojilerinin önlenmesinde olumlu katkıları olabileceği sonucuna vardık.

VII. ÖZET

İntraabdominal basınç artışı yoğunbakım hastalarında sık karşılaşılan bir sorundur. İntraabdominal basıncın sürekli artışı, özellikle kardiyovasküler, respiratuvar ve renal sistemlerde olmak üzere çoklu organ fonksiyon bozukluğu ile karakterize klinik tabloya neden olur.

Deksmedetomidin sedatif, anksiyolitik, analjezik etkileri ve solunum depresyonu oluşturmaması nedeniyle yoğun bakımda iyi bir tercihtir. Solunum sistemi üzerine minimal etkileri vardır. Bu da solunum depresyonu yapan diğer anesteziyelere göre önemli bir avantajdır.

Bu çalışmada intraabdominal basınç artışına bağlı gelişen akciğer hasarı üzerine dexmedetomidinin etkilerinin araştırılması planlandı.

Bu amaçla 32 adet erişkin Wistar albino erkek rata ksazin/ketamin kombinasyonu ile İM enjeksiyon uygulanarak anestezi uygulandıktan sonra tansiyon manşonu kullanılarak 12-15 mmHg dolayında intraabdominal basınç artışı sağlandı. 2 saat süreyle spontan solunuma bırakıldı. 2 saat sonunda randomize olarak 4 gruba ayrılan ratlardan 1. Gruba hiçbir işlem yapılmadı. 2. Gruba intravenöz olarak 1cc %0.9 NaCl puşe olarak uygulandı. 3. Gruba 0.2 µg/kg dexmedetomidin intravenöz olarak uygulandı. 4. Gruba intravenöz olarak 0.7 µg/kg dexmedetomidin intravenöz olarak uygulandı. İntravenöz enjeksiyonlardan sonra ilaç etkisini gözlemek için 30 dakika beklendi. Derin anestezi altında olan ratlar çalışılacak organlarının alınmasından sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

Akciğer dokuları direkt %10' luk formalin solüsyonu ile tespit edilerek rutin parafin takibinden sonra dokunun morfolojisini incelemek amacıyla hematoksilin-eozin ile boyanır iken, diğer kesitler apoptotik hücrelerin belirlenmesi için TUNEL yöntemi, kapsaz ve FasL dağılımlarını göstermek amacı ile indirect immünohistokimya teknikleri ile incelendi.

Hemotoksilen-eozin ile boyanan akciğer dokularının gruplar arasındaki karşılaştırması sonucunda dexmedetomidin 0.2 µg/kg grubunda histolojik değişikliklerin diğer gruplara oranla daha az olduğu ve atelektazik değişikliklerin olmadığı gözlemlendi. Dexmedetomidin 0.7 µg/kg grubunda, PMNL

infiltrasyonunun diğer gruplara oranla daha fazla olduğu ve interalveolar kalınlaşmanın göreceli olarak bu grupta daha fazla olduğu belirlendi.

İndirekt immunohistokimyasal incelemelerde ise dexmedetomidin 0.2 µg/kg grubunda özellikle kaspaz-8 in artmış, kaspaz-3 immunoreaktivitesinin göreceli olarak daha az artmış olması, dexmedetomidin 0.2 µg/kg dozu uygulandığında akciğer hücrelerinde apoptozisi geciktirdiği ama apoptozisin başlamış olduğu ve apoptotik yolaktan ekstrensek yolağın kullanıldığını desteklemektedir. Kaspaz 3 immunoreaktivitesinin 0.7 µg/kg yüksek doz dexmedetomidin uygulanan grupta 0.2 µg/kg düşük doz dexmedetomidin uygulanan gruba oranla daha fazla olduğunun saptanması üzerine, düşük doz dexmedetomidin tedavisinin akciğerlerde apoptozisi geciktirdiği sonucuna varıldı.

VIII. SUMMARY

Effects of Dexmedetomidine on Lung Apoptosis in Increased Intra-abdominal Pressure Rats

An increase in intra-abdominal pressure in patients staying in intensive care units is a common problem. A steady increase in the intra-abdominal pressure can lead to clinical tablo characterized with multiple organ dysfunctions mainly in cardiovascular, respiratory and renal systems.

Deksmedetomidine is a good alternative in intensive care since it doesn't lead to respiratory depression and due to its sedative, anxiolytic and analgesic effects. It has the minimal affect on the respiratory system, which makes it advantageous to other analgesics which cause respiratory depression.

In this study, it was aimed to investigate the effects of deksmedetomidine on pulmonary defects developing from the increase in the intra-abdominal pressure.

With this goal in mind, after 32 adult Wistar Albino male rats were anaesthetized by administering rata "ksalazin/ketamin" combination with IM injection, a 12-15 mmHg increase in intra-abdominal pressure was accomplished by using pressure cuff. Rats were left to spontaneous respiration for two hours. After the two hours, rats were randomly divided into four groups. The first group underwent no process and used as control group. One cc 0.9 % NaCl bolus was intravenously administered to the second group and used as SF group. To the third group 0.2 µg/kg dexmedetomidine and the fourth group 0.7 µg/kg dexmedetomidine were intravenously administered. After the intravenous injections, in order to observe the effects of the medicines, we waited 30 minutes. After the organs to be worked on were removed from the rats which were under deep anesthesia, the rats were sacrificed through cervical dislocation.

Lung tissues were fixed in 10 % formalin and they were underwent routine paraffin protocols. Five micron sections were taken and they were used for both histochemical and immunohistochemical studies.

For histochemical studies, sections were stained with direct hematoxylin-eosin in order to study the morphology of the tissues. Other cross sections were

stained with TUNEL method in order to determine apoptotic cells. For immunohistochemical studies, rests of the sections were stained with anti-caspase-3, anti-caspase-8, anti-caspase-9 and anti-Fas/FAsL antibodies using indirect immunohistochemical techniques.

As result of the comparison of the lung tissues of the groups stained with hematoxylin-eosin, it was seen that histological changes were less in the 0.2 µg/kg dexmedetomidine group than in the other groups and that there were no atelectatic changes in the same group. PNL infiltration was higher in the 0.7 µg/kg dexmedetomidine group than in the other groups, and interalveolar thickness was relatively higher too.

In indirect immunohistochemical studies, in the 0.2 µg/kg dexmedetomidine group, especially immunoreactivity of caspase-8 and caspase-3 were increased, however, caspase-3 immunoreactivity was less than caspase-8 immunoreactivity. These result supported that when 0.2 µg/kg dexmedetomidine was administered; apoptosis, though delayed, started and extrinsic pathways was used through apoptotic pathways. After it was determined that caspase 3 immunoreactivity is higher in the 0.7 µg/kg dexmedetomidine group than in the 0.2 µg/kg dexmedetomidine group, it was concluded that lower-dose-dexmedetomidine therapy delayed apoptosis in the lungs.

IX. KAYNAKLAR

- 1- Malbrain ML. Abdominal pressure in the critically ill: measurement and clinical relevance. *Intensive Care Med* 1999;25:1453-1458.
- 2- Wilson SE. Stimulus-specific and cell type-specific cascades: emerging principles relating to control of apoptosis in the eye. *Exp Eye Res* 1999; 69: 255-266.
- 3- Quigley HA. Neuronal death in glaucoma. *Prog Retin Eye Res* 1999; 18: 39-57.
- 4- Belleville JW, Ward DS, Byron C, et al. Effects of intravenous dexmedetomidine in humans I. Sedation, ventilation, and metabolic rate; *Anesthesiology* 1992; 77:1125- 1133.
- 5- Vegar-Brozovic V, Stoic-Brezak J. Pathophysiology of Abdominal Compartment Syndrome .*Transplantation Proceedings* 2006; 38: 833-835.
- 6- Lee SL, Anderson JT, Kraut EJ, et al. A simplified approach to the diagnosis of elevated intra-abdominal pressure. *J Trauma* 2002; 52:1169.
- 7- Ridings PC, Bloomfield GL, Blocher CR, et al . Cardiopulmonary effects of raised intra-abdominal pressure before and after intravascular volume expansion. *J Trauma* 1995; 39: 1071-1075.
- 8- Barnes GE, Laine GA, Giam PY, et al. Cardiovascular responses to elevation of intra-abdominal hydrostatic pressure. *Am J Physiol* 1985; 248: 208-213.
- 9- Banasik J, Shock (eds): *Pathophysiology*, 2nd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2000: 482
- 10- Swartz C, Wick JM: *Abdominal packs: alternatives*. *Int J Trauma* 2002; 8:18
- 11- Harman PK, Kron IL, McLachlan HD, et al. Elevated intra-abdominal pressure and renal function. *Ann Surg* 1982; 196: 594-597.

- 12- Bloomfield GI, Ridings PC, Blocher et al. A proposed relationship between increased intraabdominal, intrathoracic and intracranial pressure. *Crit Care Med* 1997; 25: 496-503.
- 13- Kerr Jf, Willie AH, Currie AR. Apoptosis a basic biologic phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-257.
- 14- Cooper G. M., Cell signaling, In *The Cell a molecular approach*, ASM press, 2th, Washington D.C. 2000; 13:523-552.
- 15- Saunders J.W., Death in embryonic systems, *Science*, 1966, 154:604-612
- 16- Ovalı E., Apoptozis, In: Ustaçelebi Ş., *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Ankara, Güneş Kitabevi 1999:195-203.
- 17- Thompson C.B., Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease, *Science*. 1995, 267: 1456-62
- 18- Li P., Chopp M., Jiang N., Zagola C., In situ detection of DNA fragmentation after focal cerebral ischemia in mice, *Brain Res. Mol.* 1995, 28:164-168
- 19- O'Hare M., Wang F., Park D.S., Cyclin –dependent kinases as potential targets to improve stroke outcome. *Pharmacol. Ther.* 2002, 93:135-143
- 20- Rink A., Fung K. M., Trojanowsky J.Q., et al, Evidence of apoptosis cell death after experimental traumatic brain injury in the rat, *Am. J. Pathol.* 1995;147:1575-1583
- 21- Becker E.B.E., Bonni A., Cell cycle regulation of neuronal apoptosis in development and disease, *Progress in Neurobiology*. 2004; 72:1-25
- 22- Ortiz-Arduan A., Neilson E.G., Apoptotic cell death in renal diseases, *Nephron*. 1994; 14: 391-407
- 23- Bosman FT, Visser BC, Van Oeveren J. Apoptosis: Pathophysiology of programmed cell death. *Path Res Pract* 1996; 192: 676-683.
- 24- Thompson C.B., Apoptosis, In: Paul W. E., (Ed) *Fundamental Immunology*. Lippincott-Raven Publishers, 1999:124-127.
- 25- Orrenius S., Mitochondrial regulation of apoptotic cell death, *Toxicology Letters*. 2004, 149:19-23
- 26- Wyllie A.H., Kerr J.F.R., Currie A.R., Cell death: the significance of apoptosis, *Int. Rev. Cytol.*, 1980; 68:251-306

- 27- Kerr J.F.R., Winterford C. M., Harmon B. V., Apoptosis- its significance in cancer and cancer therapy, *Cancer*, 1994; 73:2013-2026
- 28- Arends M., Wyllie A.H., Apoptosis: mechanism and roles in pathology, *Int. Rev. Exp. Pathol.* 1991; 32:223-254
- 29- McLaughlin R., Kelly C.J., Kay E. et al, The role of apoptotic cell death in cardiovascular disease, *Ir J Med Sci.* 2001; 170: 132-140
- 30- Denecker G., Vercammen D., Declercq W., et al., Apoptotic and necrotic cell death induced by death domain receptors, *Cell Mol Life Sci.* 2001; 58: 356-370
- 31- Vaux DL, Strasser A: The molecular biology of apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 2239-2244
- 32- Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis and necrosis; an overview of cell death. *Am J Pathol* 1995; 146: 3-15.
- 33- Anderson P., Kinase cascades regulating Entry into apoptosis, *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 1997; 61: 33-46
- 34- Chen M, Wang J: Initiator caspases in apoptosis signaling pathways. *Apoptosis* 2002; 7: 313–319
- 35- Thornberry NA, Lazebnik Y: Caspases: enemies within. *Science* 1998; 281: 1312–1316
- 36- Earnshaw W.C., Martins L.M., Kaufmann S.H., Mammalian caspases: structure activation, substrates, and functions during apoptosis, *Annu. Rev. Biochem.* 1998, 68:383-424
- 37- Thornberry NA, Lazebnik Y: Caspases: enemies within. *Science* 1998; 281: 1312–1316
- 38- Tewari M, Quan LT, O'Rourke K, et al Yama/CPP32 beta, a mammalian homolog of CED-3, is a CrmA-inhibitable protease that cleaves the death substrate poly(ADP-ribose) polymerase. *Cell* 1995; 81: 801–809
- 39- Taimen P, Kallajoki M: NuMA and nuclear lamins behave differently in Fas-mediated apoptosis. *J Cell Sci* 2003; 116: 571–583
- 40- Cheng AC, Huang TC, Lai CS, et al: Induction of apoptosis by luteolin through cleavage of Bcl-2 family in human leukemia HL-60 cells. *Eur J Pharmacol* 2005; 509: 1–10

- 41- Rudel T, Bokoch GM: Membrane and morphological changes in apoptotic cells regulated by caspase-mediated activation of PAK2. *Science* 1997; 276: 1571–1574
- 42- Krammer P.H., CD95's deadly mission in the immune system, *Nature*. 2000, 384-368-372
- 43- Scaffidi C., Fulda S., Srinivasan A., Et al. Two CD95 (APO- 1/ Fas) signaling pathways, *EMBO J.*, 1998, 17:1675-1687
- 44- Ashkenazi A., Dixit V. M., Death receptors: Signaling and modulation, *Science*. 1998, 281:1305-1308
- 45- Wajant H: Death receptors. *Essays Biochem* 2003; 39: 53–71
- 46- Thomas W.D., Hersey P., TNF –related apoptosis –inducing ligand (TRAIL) induces apoptosis in Fas ligand- resistant melanoma cells and mediates CD4 T cell killing of target cells, *J Immunol*. 1998, 161: 2195-2200
- 47- Griffith T.S., Chin W.A., Jackson G.C.et al, Intracellular regulation of TRAIL –induced apoptosis in human melanoma cells, *J Immunol*. 1998, 161:2833-2940
- 48- Wang X., The expanding role of mitochondria in apoptosis, *Genes & Development*. 2001, 15:2922-293
- 49- Hung RW, Chow AW: Dissecting the “end game”: clinical relevance, molecular mechanisms and laboratory assessment of apoptosis. *Clin Invest Med* 2004; 27: 324–344
- 50- Luo X., Budihardjo I., Zou H., et al, Bid, a Bcl-2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors, *Cell*. 1998, 94: 481-490
- 51- Soane L., Cho H.J., Niculescu F.et al, C5b-9 terminal complement complex protects oligodendrocytes from death by regulating Bad through phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway, *J. Immunol*. 2001, 167:2305-2311
- 52- Esposti M.D., The roles of Bid, *Apoptosis*. 2002, 7:433-440
- 53- Wang K., Yin X.M., Chao D.T.et al, BID: a novel BH3 domain-only death agonist, *Genes Dev*.1996, 10:2859-2869

- 54- Grinberg M., Sarig R., Zaltsman Y. et al, tBid Homooligomerizes in the mitochondrial membrane to induce apoptosis, *J. Biol. Chem.*, 2002, 277:12237-12245
- 55- Zou H, Li Y., Liu X. et al, An APAF -1 cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activates procaspase-9. *J. Biol. Chem.* 1999, 274:11549-11556
- 56- Rodriguez J., Lazebnik Y., Caspase-9 and APAF-1 form an active holoenzyme *Genes & Dev.* 1999, 13:3179-3184
- 57- Tsujimoto Y., Cossman E., Jaffe E., et al, Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma, *Science.* 1985, 228:1140-1443
- 58- Sprick M. R., Walczak H., The interplay between the Bcl-2 family and death receptor-mediated apoptosis, *Biochimica et Biophysica Acta.* 2004, 1664: 125-132
- 59- Anderson P., Kinase cascades regulating Entry into apoptosis, *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 1997, 61: 33-46
- 60- Scorrano L. , Korsmeyer S. J., Mechanism of cytochrome c release by proapoptotic Bcl-2 family members, *Science Direct.* 2003, 304:437-444
- 61- Susin S.A., Lorenzo H.K., Zamzami N., et al. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor, *Nature.* 1999, 397:441-446
- 62- Ameisen J.C., On the origin, evolution and nature of programmed cell death: a timeline of four billions years, *Cell Death Differ.* 2002, 9:367-393
- 63- Yu S.W., Wang H., Poitras M.F., et al. Mediation of poly (ADP-ribose) polymerase -1-dependent cell death by apoptosis-inducing factor, *Science.* 2002, 297:259-263
- 64- Miramar M.D., Constantini P., Ravagnan L., et al. NADH oxidase activity of mitochondrial apoptosis-inducing factor, *J.Biol. Chem.* 2001, 276:16391-16398
- 65- Susin S.A., Dauglas E., Ravagnan K., et al. Two distinct pathways leading to nuclear apoptosis, *J.Exp. Med.* 2000, 192:571-580
- 66- Cote J., Ruiz-Carrillo A., Primers for mitochondrial DNA replication generated by endonuclease G, *Science.* 1993, 261:765-769
- 67- Gurp M.V., Festjens N., Loo G.V. et al., Mitochondrial intermembrane proteins in cell death, *Science Direct.* 2003, 304: 487-497

- 68- Zha J., Harada H., Yang E. et al, Serine phosphorylation of death agonist bad in response to survival factor results in binding to 14-3-3 not Bcl-xl, *Cell*. 1996, 87:619-628
- 69- McDonnell t. J., Deane N., Platt F.M. et al., McKearn J.P., et al. Bcl-2 immunoglobulin transgenic mice demonstrate extended B cell survival and follicular lymphoproliferation, *Cell*. 1989, 57:79-88
- 70- Du C., Fang M., Li Y., et al, Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition, *Cell*. 2000, 102:33-42
- 71- Verhagen A.M., Ekert P.G., Pakusch M., et al. Identification of DIBLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins, *Cell*. 2000, 102: 43-53
- 72- Gray C.W., Ward R.V., Karan E., et al. Characterization of human HtrA2, a novel serine protease involved in the mammalian cellular stress response, *Eur. J. Biochem*. 2000, 267:5699-57101
- 73- Faccio L., Fusco C., Chen A. et al., Characterization of a novel human serine protease that has extensive homology to bacterial heat shock endoprotease HtrA and regulated by kidney ischemia, *J. Biol. Chem*. 2000, 275:2581-2588
- 74- Suzuki Y., Imai Y., Nakayama H. et al., A serine protease HtrA2, is released from the mitochondria and interacts with XIAP, inducing cell death, *Mol. Cell*. 2001, 8:613-621
- 75- Constantini P., Jacotot E., Decaudin D. et al, Mitochondrion as a novel target of anticancer chemotherapy, *J. Natl. Cancer Inst*. 2000, 92:1042-1053
- 76- Slee EA, Harte MT, Kluck RM, et al Casiano CA, Newmeyer DD, Wang HG, Reed JC, Nicholson DW, Alnemri ES, et al: Ordering the cytochrome c-initiated caspase cascade: hierarchical activation of caspases-2, -3, -6, -7, -8, and -10 in a caspase-9-dependent manner. *J Cell Biol* 1999; 144: 281–292
- 77- Zou H, Li Y, Liu X, et al An APAF-1.cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activates procaspase-9. *J Biol Chem* 1999; 274: 11549–11556

- 78- Du C, Fang M, Li Y, et al Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell* 2000; 102: 33–42
- 79- Yang QH, Church-Hajduk R, Ren J et al Omi/ HtrA2 catalytic cleavage of inhibitor of apoptosis (IAP) irreversibly inactivates IAPs and facilitates caspase activity in apoptosis. *Genes Dev* 2003; 17: 1487–1496
- 80- Savill J, Hogg N, Ren Y et al Thrombospondin cooperates with CD36 and the vitronectin receptor in macrophage recognition of neutrophils undergoing apoptosis. *J Clin Invest* 1992; 90: 1513–1522
- 81- Matute-Bello G, Liles WC, Radella F 2nd, et al: Neutrophil apoptosis in the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1969–1977
- 82- Albertine KH, Soulier MF, Wang Z, et al Fas and fas ligand are up-regulated in pulmonary edema fluid and lung tissue of patients with acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *Am J Pathol* 2002; 161: 1783–1796
- 83- Uhal BD, Joshi I, Hughes WF et al Alveolar epithelial cell death adjacent to underlying myofibroblasts in advanced fibrotic human lung. *Am J Physiol* 1998; 275: L1192–1199
- 84- Chapman HA: A Fas pathway to pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 1999; 104: 1-2
- 85- Kuwano K, Miyazaki H, Hagimoto N et al: The involvement of Fas-Fas ligand pathway in fibrosing lung diseases. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20: 53–60
- 86- Kuwano K, Kawasaki M, Maeyama T et al: Soluble form of fas and fas ligand in BAL fluid from patients with pulmonary fibrosis and bronchiolitis obliterans organizing pneumonia. *Chest* 2000; 118: 451–458
- 87- Maze M; Molekuler Phamacology of alpha 2 adrenergic receptors. *Anaesthetic Pharmacology Review*, 1993;1:233-238.
- 88- Bloor BC General pharmacology of alpha 2 adrenoceptors. *Anaesthetic Pharmacology Review*, 1993;1:246-263,
- 89- Hofmann BB: Adrenoceptor activating drug. In: Basic and clinical pharmacology, Katzung BG (ed), fifth edition, Librairie du Liban, printed in Lebanon, 1992; 109- 124.

- 90- Lomasney, J.W., Cotecchia, Lefkowitz, R.J., et al . Molecular biology of alfa adrenergic receptors: Implications for receptor classification and for structure- relationships. *Biochem Biophys Acta* 1991; 1095:127-39,
- 91- Jean Mantz, Department of anesthesiology and critical care, and institut national de la sante et de la recherche medicale (INSERM), Hospital bichat, Paris, France *Drugs of today* 1999; 35(3): 151-157,
- 92- Hayashi, Y., Rabin, B.C., Guo, T.Z.,. Role of pertussis toxin-sensitive G-proteins in the analgesic and anesthetic actions of alfa2 adrenergic agonists in the rat. *Anesthesiology* 1995; 83: 816-22,
- 93- Maze M; *Molecular Pharmacology of alpha 2 adrenergic receptors. Anaesthetic Pharmacology Review*, 1993; 1:233-238.
- 94- Maze M, Tranquilli W: Alpha-2 adrenoceptor agonist: defining the role in clinical anesthesia. *Anesthesiology* 1991; 74: 581-605.
- 95- Vulliamoz, Y., Shen, H., Virag, L. α 2 Adrenoceptor agonists decrease cyclic guanosine 3',5'- monophosphate in the Mouse brain. *Anesthesiology* 1996; 85: 544-50,
- 96- Hayashi Y., Maze M.: α 2-Adrenoceptor agonists and anesthesia. *Br J Anaesth* 1993; 71: 108-18,
- 97- Scheinin M., Lomasney J.W., Hayden-Hixson D.M. et al.: Distribution of alpha 2- adrenergic receptor subtype gene expression in rat brain. *Mol Brain Res* 1994; 21: 133-49, 64
- 98- Martin PR, Ebert MH, Gordon EK, et al: Effects of clonidine on central and peripheral catecholamine metabolism. *Clin. Pharmacol Ther* 35:322-327, 1984
- 99- Bloor BC: General pharmacology of alpha 2 adrenoceptors. *Anaesthetic Pharmacology Review*, 1:246-263, 1993.
- 100- Massara F, Limone P, Cagliero E, et al: Effects of aloxane responses to alpha adrenergic stimulation with clonidine. *Acta Endocrinol.* 103:371-375, 1983.
- 101- Bloor BC, Schmelling WT: Cardiovascular effects of alpha 2 adrenoceptors. *Anaesthetic Pharmacology Review*, 1:246-263, 1993.
- 102- Ward DS: Respiratory effects of alpha 2 adrenoceptor agonists. *Anaesthetic Pharmacology Review*, 1:263-268, 1993

- 103- Bailey PL, Sperry RJ, Johnson GK: Respiratory effects of clonidine alone and combined with morphine in humans. *Anesthesiology* 74:43-48, 1991
- 104- Orko R, Pouttu J, Ghignone M, et al: Effects of clonidine on hemodynamics responses to endotracheal intubation and on gastric acidity. *Acta Anaesthesiol Scand* 31:328-329, 1987
- 105- Precedex product label, Abbott Laboratories Inc.
- 106- Aantaa R. Assessment of sedative effects of dexmedetomidine, an α_2 adrenoceptor agonist, with analysis of saccadic eye movements. *Pharmacol Toxicol.* 1991; 68: 394-398.
- 107- Hayashi Y, Maze M. α_2 adrenoceptor agonist and anaesthesia. *Br J Anaesth.* 1993; 71: 108-118.
- 108- Aantaa R, Kallio A, Virtanen R. Dexmedetomidine, a novel α_2 adrenergic agonist. A review of its pharmacodynamic characteristics. *Drugs of the future.* 1993; 18: 49-56.
- 109- Jaakola ML. Dexmedetomidine premedication before intravenous regional anesthesia in minor outpatient hand surgery. *J Clin Anesth,* 1993; 6: 204-211
- 110- Van Helmrijk JH. New anaesthetic agents in neuroanesthesia. 6th ESA Annual Meeting Refresher Course Lectures 1998; 45-49.
- 111- Lawlis GF, Selby D, Hinnant D, et al Reduction of postoperative pain parameters by presurgical relaxation instructions for spinal pain patients. *Spine* 1985; 10:649.
- 112- Eisenach J.C., Shafer S.L., Bucklin B.A., et al : Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intraspinal dexmedetomidine in sheep. *Anesthesiology* 1994; 80: 1349-1359.
- 113- Pertovaara A., Kauppila, T., The effect of medetomidine, an α_2 – adrenoceptor agonist, in various pain tests. *Eur J Pharmacol* 1990 ;179: 108-114.
- 114- Aantaa R., Jaakola M.L., Kallio A., et al: Reduction of the minimum alveolar concentration of isoflurane by dexmedetomidine. *Anesthesiology* 1997;86:1055-1560.
- 115- Jean Mantz. Dexmedetomidine *Drugs of Today.* 1999; 35(3): 151-157
- 116- Shafer A, White PF, Urquhart ML et al. Outpatient premedication: Use of midazolam and opioid analgesics. *Anesthesiology* 1989;71:495.

- 117- Grounds M. Dexmedetomidine: phase III results. Proceedings from the 19th international symposium on intensive care and emergency medicine; 1999 mar 16-19; brussels;15-18.
- 118- Aho M., Scheinin M., Lehtinen A.M. et al.: Intramuscularly administered dexmedetomidine attenuates hemodynamic and stress hormone responses to gynecologic laparoscopy. *Anesth Analg* 1993; 75: 932-939.
- 119- Scheinin B., Lindgren L., Randell T. et al.: Dexmedetomidine attenuates sympathoadrenal responses to tracheal intubation and reduces the need for thiopentone and perioperative fentanyl. *Br J Anaesth* 1992; 68: 126-131,
- 120- Duke, P., Maze, M., Morrison, P. Dexmedetomidine: A general overview. In: International Congress and Symposium Series 221, Redefining Sedation. Maze M., Morrison, P. (Eds). Royal Society of Medicine: London 1998; 11-22,
- 121- Effects of intravenous dexmedetomidine in humans I. Sedation, ventilation, and metabolic rate; Belleville JW, Ward DS, Byron C, Bloor, Maze: *Anesthesiology* 1992; 77:1125- 1133,
- 122- Belleville JW, Howland WS, Seed JC, et al: The effect sleep on the respiratory response to carbon dioxide *Anesth.* 1959; 20: 628-634,
- 123- Bachand R, Scholz J, Pinaud M, et al. The effects of dexmedetomidine in patients in the intensive care setting (abstract no. 622). *Intensive Care Med* 1999; 25 suppl. I:160,
- 124- Bouaziz H, Hewitt C, Eisenach JC. Subarachnoid neostigmine potentiation of α_2 adrenergic agonist analgesia. Dexmedetomidine versus Clonidine. *Reg Anesth* 1995; 20: 121-127.
- 125- Kamibayashi T, Maze M: Clinical uses of alpha2 adrenergic agonists. *Anesthesiology* 2000; 93:1345-1349.
- 126- Ebert TJ, Hall JE, The effects of increasing plasma concentration of dexmedetomidine in humans. *Anesthesiology* 2000; 93: 382-392.
- 127- Suematsu, Toshihiro M.D, Convenient Murine Pneumoperitoneal Model for the Study of laparoscopic Cancer Surgery. Lippincott Williams&Wilkins 1999;9:279.

- 128- F. Gudmundsson, Respiratory changes during prolonged increased intra-abdominal pressure in pigs, *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 2004;48:463-468.
- 129- Ridings PC, Bloomfield GL, Blocher CR, et al Cardiopulmonary effects of raised intra-abdominal pressure before and after intravascular volume expansion. *J Trauma* 1995; 39: 1071-1075.
- 130- Barnes GE, Laine GA, Giam PY, et al. Cardiovascular responses to elevation of intra-abdominal hydrostatic pressure. *Am J Physiol* 1985; 248: 208-213.
- 131- Mutoh T, Lamm WJ, Embree LJ, et al. Abdominal distension alters regional pleural pressures and chest mechanics in pigs in vivo. *J Appl Physiol* 1991; 70: 2611-2618.
- 132- Cullen DJ, Coyle JP, Teplick R, et al. Cardiovascular, pulmonary, and renal effects of massively increased intraabdominal pressure in critically ill patients. *Crit Care Med* 1989; 17: 118-121.
- 133- Obeid F, Saba A, Fath J et al. Increases in intra-abdominal pressure affect pulmonary compliance. *Arch Surg* 1995; 130: 544-548.
- 134- Citero G, Vascotto E, Villa F, et al. Induced abdominal compartment syndrome increases intracranial pressure in neurotrauma patients: a prospective study. *Crit Care Med* 2001; 29: 1466-1471.
- 135- Neff TA, Guo RF, Neff SB, et al: Relationship of acute lung inflammatory injury to Fas/FasL system. *Am J Pathol* 2005; 166: 685–694
- 136- Matute-Bello G, Liles WC, Radella F 2nd, et al: Neutrophil apoptosis in the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1969–1977
- 137- Groeben H, M.D, Effects of the alfa 2 adrenoceptor agonist Dexmedetomidine on Broncoconstriction in dogs. *Anesthesiology* 2004; 100: 359-363.
- 138- Grundström N, Andersson RGG: Inhibition of the cholinergic neurotransmission in human airways via prejunctional alpha-2-adrenoceptors. *Acta Physical Scand* 1985; 125:513-517.
- 139- Grundström N, Andersson RGG, Wikberg JES: Prejunctional alpha2 adrenoceptors inhibit contraction of tracheal smooth muscle by inhibiting cholinergic neurotransmission. *Life Sci* 1981; 28:2981–2986

- 140- Goldie RG: Receptors in asthmatic airways. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141:151-156
- 141- Barnes PJ, Karlinger JS, Dollery CT: Human lung adrenoceptors studied by radioligand binding. *Clin Science* 1980; 58:457-461.
- 142- Kneussl MP, Richardson JB: Alpha-adrenergic receptors in human and canine tracheal and bronchial smooth muscle. *J Appl Physiol* 1978; 45:307-311.
- 143- Patel KR, Kerr JW: The airways response to phenylephrine after blockade of alpha and α_2 -receptors in extrinsic bronchial asthma. *Clin Allergy* 1973; 3:439-348.
- 144- Grundström N, Andersson RGG, Wikberg JES: Inhibition of the excitatory non-adrenergic, non-cholinergic neurotransmission in the guinea pig tracheo-bronchial tree mediated by alpha2 adrenoceptors. *Acta Pharmacol Toxicol* 1984; 54:8-14.
- 145- Patel KR, Kerr JW. Alpha-receptor-blocking drugs in bronchial asthma (letter). *Lancet* 1975; 1:348-349.
- 146- Belleville JP, Ward DS, Bloor BC et al, Effects of intravenous dexmedetomidine in humans. *Anesthesiology* 1992; 77:1125-1133.
- 147- Takumi T, MD; Yoko K, MD; Hiroko K, MD et al. *Critical Care Med* 2004; 32:6: 1322-11326.
- 148- Straub RH, Herrmann M, Berkmler G, et al: Neuronal regulation of interleukin 6 secretion in murine spleen: Adrenergic and opiodergic control. *J Neurochem* 1997; 68: 1633-1639.
- 149- Maes M, Lin A, Kenis G, et al: The effects of noradrenalin and α_2 adrenoceptor agents on the production of monocytic products. *Psychiatry Res* 2000; 96:245-253.
- 150- Szelenyi J, Kiss JP, Vizi ES: differential involvement of sympathetic nervous system and immune system in the modulation of TNF-alpha production by alpha-2 and beta adrenoceptors in mice. *J Neuroimmunol* 2000; 103:34-40.
- 151- Venn RM, Bryant A, Hall GM, et al: Effects of dexmedetomidine on adrenocortical function and the cardiovascular, endocrine and inflammatory responses in postoperative patients needing sedation in the intensive care unit. *Br J Anaesth* 2001; 86: 650-656.

- 152- Nishina K, Akamatsu H, Mikawa K, et al: The effects of clonidine and dexmedetomidine on human neutrophil functions. *Anesth Analg* 1999; 88: 452-458.
- 153- Nishida T, Nishimura M, Kagawa K, et al. The effects of dexmedetomidine on the ventilatory response to hypercapnia in rabbits. *Intensive Care Med.* 2002; 28: 969-975.
- 154- Bloor, B.C., Frankland, M., Alper, G., et al. Hemodynamic and sedative effects of dexmedetomidine in dogs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1992;263: 690–697.