

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**RAT HİPOTALAMUSUNDA DEKSMEDETOMİDİNİN İNDÜKLEDİĞİ  
HİPERTERMİ MEKANİZMASININ PROTEOMİK  
ANALİZİ İLE ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Ümra Gökçe DEMİR**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hayrettin DAŞKAYA**

**TEMMUZ 2021**

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**RAT HİPOTALAMUSUNDA DEKSMEDETOMİDİNİN  
İNDÜKLEDİĞİ HİPERTERMİ MEKANİZMASININ PROTEOMİK  
ANALİZİ İLE ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Ümra Gökçe DEMİR**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hayrettin DAŞKAYA**

**TEMMUZ 2021**

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'nın tıpta uzmanlık öğrencisi Ümra Gökçe DEMİR, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “Rat Hipotalamusunda Deksmetomidinin İndüklediği Hipertermi Mekanizmasının Proteomiks Analizi ile Araştırılması” başlıklı tezi aşağıda imzaları olan jüri önünde başarılı bulunmuştur.

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hayrettin DAŞKAYA

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Kazim KARAASLAN

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr. Hasan KOÇOĞLU

Medeniyet Üniversitesi

Dr. Öğrt. Üyesi Asım ESEN

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Yedek Üyeler:

Doç. Dr. Murat HALİLOĞLU

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr. Gökçen BAŞARANOĞLU

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Savunma Tarihi: 30/07/2021

## BEYAN FORMU

Uzmanlık Tezi olarak sunduğum “Rat Hipotalamusunda Deksmetomidinin İndüklediği Hipertermi Mekanizmasının Proteomiks Analizi ile Araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Doç. Dr. Hayrettin DAŞKAYA'nın sorumluluğunda tamamladığımı, tezin planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdaki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynakçada eksiksiz gösterdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Dr. mra Gökçe DEMİR

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde büyük katkıları olan bilgi ve tecrübelerini sabırla ve şefkatle sunan değerli Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Kazım KARAASLAN'a, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ayda TÜRKÖZ'e özellikle teşekkür ederim.

Tıpta uzmanlık eğitim sürecimde ve tezimde sabır ve özverisiyle ihtiyaç duyduğum her an desteğini aldığım, özellikle yoğun bakım alanında bilgi ve beceri kazanmamda büyük katkısı bulunan ve kendisi ile çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum tez danışmanım Doç. Dr. Hayrettin DAŞKAYA'ya teşekkürlerimi sunarım. Bana her zaman esin kaynağı olan ve tezimin oluşum aşamasında ciddi katkı sunan Doç. Dr. Meltem TÜRKAY'a, tezimle ilgili temel bilimler alanında ihtiyaç duyduğum desteği geri çevirmeyen Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Birsen ELİBOL'a, Medipol Üniversitesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Ömer ATAÇ'a ve Acıbadem Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı doktora öğrencisi Saliha YILDIZHAN'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve beceri kazanmamda desteklerini esirgemeyen Dr. Öğretim Üyesi Asım ESEN'e, Öğretim Görevlisi Dr. Muhittin ÇALIM'a ve beraber çalıştığım tüm değerli uzmanlarıma ve tez sürecime verdiği destek ve motivasyon için Uzm. Dr. Ayşe KARATAŞ'a teşekkür ederim.

Deneyimlerini benimle cömertçe paylaştıkları sevgili arkadaşlarım Uzm. Dr. Zeynep Nur İNCEKARA'ya, Uzm. Dr. Ayşe ŞENCAN'a ve Uzm. Dr. Tuba BAYDAŞ'a verdikleri tüm destekler için teşekkür ederim. Uzmanlık eğitimim boyunca beraber çalıştığım tüm uzmanlık öğrencisi arkadaşlarıma özellikle desteği için Dr. Afşin GÜNEY'e, tüm ameliyathane çalışanlarımıza, tüm anestezi teknikerlerimize ve yoğun bakımdaki tüm çalışanlarımıza desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunuyorum.

Eğitimim konusunda her zaman arkamda olan ve beni cesaretlendiren anneme, babama, kardeşlerime ve dualarını yanımda hissettiğim tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Dr. Ümra Gökçe DEMİR

# İÇİNDEKİLER

BEYAN FORMU.....	iv
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
TABLO LİSTESİ .....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
GRAFİK LİSTESİ .....	x
KISALTMALAR .....	xi
<b>RAT HİPOTALAMUSUNDA DEKSMEDETOMİDİNİN İNDÜKLEDİĞİ HİPERTERMİ MEKANİZMASININ PROTEOMİKS ANALİZİ İLE ARAŞTIRILMASI .....</b>	<b>xiii</b>
ÖZET.....	xiii
<b>INVESTIGATION OF THE MECHANISM OF DEXMEDETOMIDINE- INDUCED HYPERTHERMY IN THE RAT HYPOTHALAMUS BY PROTEOMICS ANALYSIS .....</b>	<b>xv</b>
SUMMARY .....	xv
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ .....</b>	<b>17</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>18</b>
2.1. Deksmedetomidin.....	18
2.1.1. Farmakokinetik özellikler .....	19
2.1.2. Farmakodinamik özellikler .....	21
2.1.3. Klinik kullanım alanları .....	25
2.2. Termoregülasyon .....	30
2.2.1. Tanım .....	30
2.2.2. Normal Vücut Isısı .....	30
2.2.3. Isı kaybı sağlayan mekanizmalar .....	31
2.2.4. Isı artışı sağlayan mekanizmalar .....	35
2.2.5. Ayar noktası .....	36
2.2.6. Feedback kazancı .....	36
2.2.7. Davranışsal kontrol .....	36
2.2.8. Lokal cilt sıcaklığı refleksleri.....	36
2.2.9. Patofizyoloji .....	37

2.2.10. İlaça bağılı hipertermik reaksiyonlar .....	42
2.3. Proteomiks .....	45
2.3.1. Tanım .....	45
2.3.2. Proteomiks analizinin basamakları .....	46
2.3.3. Proteomiks çalışmalarının avantaj ve dezavantajları .....	57
2.3.4. Anestezik ilaçlar ve proteomiks çalışmaları .....	58
2.4. Çalışmada Anlamli Olarak Tespit Edilen Proteinlerin Genel Bilgileri .....	60
2.4.1. STIP 1 (Stress-induced-phosphoprotein 1) .....	60
2.4.2. MTCO2 (Sitokrom c oksidaz subunite 2) .....	60
2.4.3. PSMC6 (26S proteosome subunite) .....	61
2.4.4. FASN (Yağ asidi sentetaz) .....	61
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM .....</b>	<b>61</b>
3.1. Etik Kurul Onamı .....	61
3.2. Proje Desteği .....	62
3.3. Materyal .....	62
3.4. Yöntem .....	62
3.4.1. Ötenazi gerektiren durumlar .....	64
3.4.2. Sakrifikasyon .....	64
3.4.3. Diseksiyon .....	65
3.4.4. Transfer .....	65
3.4.5. Proteomiks yöntemi .....	65
3.4.6. Biyoinformatik .....	66
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>68</b>
4.1. Vital bulgular .....	68
4.2. Moleküler veriler .....	72
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>82</b>
<b>6. SONUÇ .....</b>	<b>87</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>88</b>
<b>8. EK TABLOLAR .....</b>	<b>105</b>

## TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Normal ve ateşli vücut ısısı aralıkları (rektal ölçüm) .....	37
Tablo 2. Septik nedene bağlı olmayan hipertermi nedenleri.....	42
Tablo 3. Kütle spektrometresi cihazının ana parçaları .....	49
Tablo 4. Anestezi derinliği skalası .....	64
Tablo 5. Saatlik vücut sıcaklığı ortalamalarının iki grup arasında anlamlılığı.....	71
Tablo 6. Korelasyon testleri .....	72
Tablo 7. LC-MS/MS analizine göre istatistiksel olarak ( $p \leq 0,05$ ) anlamlı bulunan proteinler .....	73
Tablo 8. LC-MS/MS analizine göre kat değişimi ( $\geq 1.4$ ) anlamlı bulunan proteinler .....	75
Tablo 9. LC-MS/MS analizine göre istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0,05$ ) ve kat değişimi açısından anlamlı ( $\geq 1.4$ -kat değişimi) bulunan proteinler.....	75
Tablo 10. Up regülasyon gösteren anlamlı yolların normalleştirilmiş zenginleştirme puanlarına (NES) göre sıralanmış listesi .....	76
Tablo 11. Down regülasyon gösteren anlamlı yolların normalleştirilmiş zenginleştirme puanlarına (NES) göre sıralanmış listesi .....	77
Tablo 12. Up regülasyon gösteren yollar ve proteinler .....	80
Tablo 13. 'G-Alfa I Sinyalizasyon yolağında down regüle proteinler .....	105
Tablo 14. İnsulin Sekresyon Regülasyon yolağında down regüle proteinler.....	106
Tablo 15. İyon kanal Transport yolağında down regüle proteinler .....	106
Tablo 16. GPCR ile Sinyal, Demir Alımı ve Transport, Reseptör Tirozin Kinazlarla Sinyal yollarında down regüle proteinler .....	107
Tablo 17. Nörotransmitter Reseptörleri ve Postsinaptik Sinyal İletimi, Oksidatif Fosforilasyon, Kimyasal Sinapslar Üzerinden İletim, Nöronal Sistem yollarında down regüle proteinler .....	108
Tablo 18. Küçük molekül transport yolağında down regüle olan proteinler.....	109



## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Deksmetomidinin Kimyasal Yapısı .....	19
Şekil 2. Hipotalamus anatomisi ve preoptik alan (82) .....	33
Şekil 3. Lamina terminalis organum vasculosum (OVLT).....	38
Şekil 4. Post translasyonel modifikasyon basamakları .....	46
Şekil 5. Yüksek çözünürlük hesaplanması .....	52
Şekil 6. Yolaklar içerisinde anlamlı bulunan proteinlerin yüzdelik oranları .	78
Şekil 7. Diferansiyel olarak eksprese edilen proteinlerin profilinin volcano plot ile gösterimi .....	79



## GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1. İki grubun sıcaklık zaman eğrileri .....	69
Grafik 2. Saturasyonun zamana göre değişimi.....	69
Grafik 3. Sedasyon puanının zamana göre değişimi .....	70
Grafik 4. Kalp atım hızının zamana göre değişimi .....	70



## **KISALTMALAR**

**ABD:** Amerika Birleşik Devletleri

**ADR:** Advers Drug Reaction

**Ark.:** Arkadaşları

**Cl:** Klirens

**F:** Fahrenheit

**FDA:** Food and Drug Administration

**FWHM:** Full Width at Half Maximum

**GABA:** Gama Aminobütirik Asit

**HCl:** Hidrojen Klorür

**HSP:** Isı Şok Proteini

**İv:** İntravenöz

**im.:** İntramusküler

**Kg :** Kilogram

**L:** Litre

**LC:** Lokus seruleus

**LCFA:** Long Chain Fatty Acid

**LC-MS/ MS:** Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi

**LPS:** Lipopolisakkarit

**ml:** Mililitre

**NES:** Normalized Enrichment Skor

**NMS:** Nöroleptik Malign Sendrom

**ng:** Nanogram

**PGE2:** Prostaglandin E2

**PO:** Preoptik

**OVL:** lamina terminalis organum vaskülosum

**Vss:** Kararlı Durum Dağılım Hacmi

**YBÜ:** Yoğun Bakım Ünitesi

**WHO-UMC:** Dünya Sağlık Örgütü-Uppsala İzleme Merkezi

**µg:** Mikrogram

**°C:** Derece Santigrat



**RAT HİPOTALAMUSUNDA DEKSMEDETOMİDİNİN İNDÜKLEDİĞİ  
HİPERTERMİ MEKANİZMASININ PROTEOMİKS ANALİZİ İLE  
ARAŞTIRILMASI**

**ÖZET**

**AMAÇ:** Oldukça selektif bir  $\alpha_2$  adrenerjik reseptör agonisti olan deksmedetomidine bağlı vucut sıcaklığı yükselmesinin ayrıntılı santral mekanizmasını aydınlatmak amacıyla rat hipotalamus hücrelerinde proteomiks ve biyoinformatik analiz aracılığı ile değişen proteom profilleri gösterilmek istenmiştir.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan alınan onay sonrasında 8-10 haftalık yetişkin erkek 10 adet rat, 2 ayrı gruba ayrıldı. Deney grubuna 0,15  $\mu\text{g}/\text{gr}$  deksmedetomidin ve kontrol grubuna aynı volümde serum fizyolojik 24 saatte 5 kez intraperitoneal olarak uygulandı. Sedasyon skalasına göre saatlik puanlama yapıldı, sedasyon süresince saatlik kalp atım hızı, saturasyon ve vücut sıcaklıkları kaydedildi. 24 saatin sonunda tüm denekler %70 karbondioksit inhalasyonu ve ardından giyotin ile sakrifiye edildi. Diseksiyon yapılarak hipotalamuslar  $-80^\circ\text{C}$ 'de dondurucuda saklandı. FASP (Filter-Aided Sample Preparation) protokolü ile ayrıştırılan dokuya Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) ile yüksek çözünürlüklü proteomiks analizi yapılmıştır. PLGS Threshold Inspector ve PLGS 3.0.1 biyoinformatik araçlar kullanılarak protein tayini yapıldı. Fazla sayıda örneğin toplu halde karşılaştırmalı analizli için Progenesis QIP yazılımı kullanıldı. Gen Seti Zenginleştirme Analizi (GSEA) ile rat dokusundan elde edilen proteinler insan ortologlarına çevirildi ve normalleştirilmiş zenginleştirme skorlarına (NES) göre ön plana çıkan yollar belirlendi.

**BULGULAR:** İki grup hipotalamus örnekleri arasında proteomiks analizine göre tanımlanan 866 protein içinden toplamda 49 protein istatistiksel olarak ( $p \leq 0,05$ ), 9 adet protein kat değişimi açısından ( $\geq 1.4$ -kat değişimi) anlamlı bulunmuştur. STIP 1 (Stress-induced-phosphoprotein 1) ve MTCO2 (Sitokrom c oksidaz subunit 2) hem istatistiksel hem de kat değişimi açısından anlamlı bulunan en önemli 2 protein olarak ön plana çıkmıştır. NES'e göre up regülasyon gösteren yollar; biyolojik

oksidasyonlar, yağ asidi metabolizması, interlökin 12 stimülasyonu sonrası jak stat sinyali ile gen ve protein ekspresyonu, proteozom, çözünür ekzojen antijen endozomlarının çapraz sunumu, poliaminlerin metabolizması, IL12 sinyali, IL12 ailesi sinyali, eksternal uyaranlara hücrel tepkiler, strese hücrel yanıt olarak belirlenmiştir. NES'e göre down regülasyon gösteren yollar; G alfa I sinyal olayları, insülin salgısının düzenlenmesi, iyon kanalı transportu, opioid sinyali, gpcr ile sinyal, demir uptake ve transportu, reseptör tirozin kinazlarla sinyal, nörotransmitter reseptörleri ve postsinaptik sinyal iletimi, oksidatif fosforilasyon, kimyasal sinapslardan iletim, nöronal sistem, küçük moleküllerin taşınması olarak belirlenmiştir.

**SONUÇ:** Çalışmamızda up regülasyon ve down regülasyon gösteren yollar ve anlamlı proteinler ile daha önce hipertermi- hipotalamus üzerinde çalışılmış makalelerde ön plana çıkan yollar ve anlamlı proteinler karşılaştırılmıştır. STIP 1 (Stress-induced-phosphoprotein 1) ve MTCO2 (Sitokrom c oksidaz subunit 2), PSMC6 (26S proteosome subunit) ve temsil ettikleri Cellular Responses To External Stimuli Biological Oxidations, Proteasome yollarının up regüle olması, Oxidative Phosphorylation yolunun down regülasyon göstermesi hipotalamusta ateş gibi fizyolojik bir stresin varlığını kanıtlar niteliktedir.

**Anahtar kelimeler:** Deksmetomidin, hipotalamus, hipertermi, ilaç ateşi, proteomiks

# INVESTIGATION OF THE MECHANISM OF DEXMEDETOMIDINE- INDUCED HYPERTHERMY IN THE RAT HYPOTHALAMUS BY PROTEOMICS ANALYSIS

## SUMMARY

**AIM:** In this study it was aimed to investigate the changing proteome profiles in rat hypothalamus cells via proteomics and bioinformatic analysis to elucidate the detailed central mechanism of body temperature rise due to dexmedetomidine which is a highly selective  $\alpha_2$  adrenergic receptor agonist.

**MATERIALS AND METHODS:** After obtaining the ethical approval from Bezmialem Vakıf University Experimental Animals Ethics Committee, 10 adult male rats aged 8-10 weeks were divided into 2 separate groups. 0.15  $\mu\text{g}/\text{gr}$  dexmedetomidine was administered intraperitoneally to the experimental group and the same volume of physiological saline was administered intraperitoneally to the control group, for four times in 24 hours. According to the sedation scale hourly scoring was done alongside heart rate, saturation and body temperatures were recorded hourly during sedation. At the end of 24 hours, all subjects were sacrificed using 70% carbon dioxide inhalation followed by guillotine. The hypothalamus were dissected and stored at  $-80^\circ\text{C}$  in the freezer. High resolution proteomics analysis was performed with Liquid Chromatography-Mass Spectrometer (LC-MS/MS) on the tissue separated by FASP (Filter-Aided Sample Preparation) protocol. Protein identification was performed using PLGS Threshold Inspector and PLGS 3.0.1 bioinformatics tools. For mass comparative analysis of large numbers of samples The Progenesis QIP software was used. Obtained proteins from rat tissue were translated into human orthologs by Gene Set Enrichment Analysis (GSEA), and prominent pathways were determined according to normalized enrichment scores (NES).

**FINDINGS:** Between the two groups of hypothalamus samples, 49 out of 866 proteins identified according to proteomics analysis were statistically significant (p

$\leq 0.05$ ), and 9 protein fold changes ( $\geq 1.4$ -fold change) were found to be statistically significant. STIP 1 (Stress-induced-phosphoprotein 1) and MTCO2 (Cytochrome c oxidase subunit 2) came to presence as the two most important proteins in terms of both statistical significance and fold change. Biological Oxidations, Fatty Acid Metabolism, Gene And Protein Expression By JAK STAT Signaling After Interleukin 12 Stimulation, Proteasome, Cross Presentation Of Soluble Exogenous Antigen Endosomes, Metabolism of Poliamins, IL12 Signaling, IL12 Family Signaling, Cellular Responses To External Stimuli, Cellular Responses of Stress were the pathways that are up-regulated according to NES. G Alpha I Signalling Events, Regulation Of Insulin Secretion, Ion Channel Transport, Opioid Signaling, Signaling By GPCR, Iron Uptake And Transport, Signaling By Receptor Tyrosine Kinases, Neurotransmitter Receptors And Postsynaptic Signal Transmission, Oxidative Phosphorylation, Transmission Across Chemical Synapses, Neuronal System, Transport Of Small Molecules were the pathways that are down-regulated according to NES.

**CONCLUSION:** In our study, pathways that are showing up- and down-regulation and significant proteins were compared with the pathways and significant proteins that were prominently studied in relation to hyperthermia-hypothalamus in articles published previously. STIP 1 (Stress-induced-phosphoprotein 1) and MTCO2 (Cytochrome c oxidase subunit 2), PSMC6 (26S proteasome subunit) and the Cellular Responses To External Stimuli Biological Oxidations they represent, up-regulation of proteasome pathways, down-regulation of Oxidative Phosphorylation pathway are proves the existence of a physiological stress such as fever.

**Keywords:** Dexmedetomidine, hypothalamus, hyperthermia, drug fever, proteomics



## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Deksmedetomidin; selektif  $\alpha_2$  reseptör agonist ilaçlardan biri olup kolay uyandırılma ve hızlı kooperasyona izin vermesi, yoğun bakım ünitesi ile mekanik ventilasyonda kalış sürelerini azaltması ve düşük deliryum insidansı gibi ilgi çekici özellikleri nedeniyle son zamanlarda yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) ve ameliyathanelerde yaygın olarak kullanılmaktadır.(1) Bolus kullanımı sırasında sıkça görülebilen hipotansiyon ve bradikardi gibi yan etkilerinin yanı sıra (2) yoğun bakım hastalarında gelişen hipertermi etkisi de olgu serileri ve tekli olgu raporlarında son zamanlarda artan şekilde bildirilmektedir.(3-5)

Deksmedetomidin kaynaklı hipertermi ile mortalite ilişkisi irdelenmiş olsa da mortalite artışı için deksmedetomidinin bir risk faktörü olmaktan ziyade organ koruyucu etkilerinin ve ventilatörden erken ayrılmayı sağladığı için mortalite üzerine olumlu katkılarının çok daha ön planda olması beklenir. Ancak açık kalp cerrahisi gibi çok özellikli girişim geçirilmesi ve obezite varlığı hipertermi için risk oluşturabilmekte ve her sıcaklık derecesi artışında mortalite ve morbidite artmaktadır.(6) Hipertermi, hastaların invaziv ve maliyetli araştırmalara, uzamış mekanik ventilasyon ve hastane yatışına (7), geniş spektrumlu antibiyotik maruziyetine ve gereksiz antibiyotik kullanımına bağlı yan etki ve/veya bakteri direncine sebep olabilmektedir.(8,9) Deksmedetomidinin tüm dünyada artan yaygın kullanımıyla birlikte hiperterminin de mevcut tahminlerden çok daha yüksek sıklıkta görülebileceği düşünülmektedir.

İlaça bağlı hipertermi mekanizmaları birbirinden farklılık göstermektedir ve ortak bir mekanizma açıklanamamaktadır. Deksmedetomidin ile ilişkili hiperterminin hem merkezi hem de nöroleptik malign sendromla benzer periferik mekanizmalarla birlikte ortaya çıktığı düşünülmektedir. Farklı klinik patolojilerle benzerlik gösterebilen bu durumun tanınması, ayırt edilmesi ve daha az hiperterminin gözleneceği efektif tedavi dozlarının geliştirilebilmesi için daha fazla araştırmaya gereksinim duyulmaktadır. Tanıda yetersiz kalınması hem maliyet hem de mortalite açısından ciddi sonuçlara sebep olabilmektedir.

Anestezi altında daha güvenli cerrahi sağlayabilmek için yaygın olarak kullanılan anestezik ilaçların mekanizmaları ve potansiyel yan etkilerinin bilinmesi önem arz

etmektedir. Bunun için klinik deneylerle beraber hedefe yönelik etki için deneysel araştırmalar ile moleküler düzeyde keşiflere ihtiyaç duyulmaktadır. Deksmetomidinin antikonvülzan, antioksidan, öğrenme ve bellek üzerine etkilerini ortaya koyan çeşitli proteomiks çalışmaları yapılmıştır.

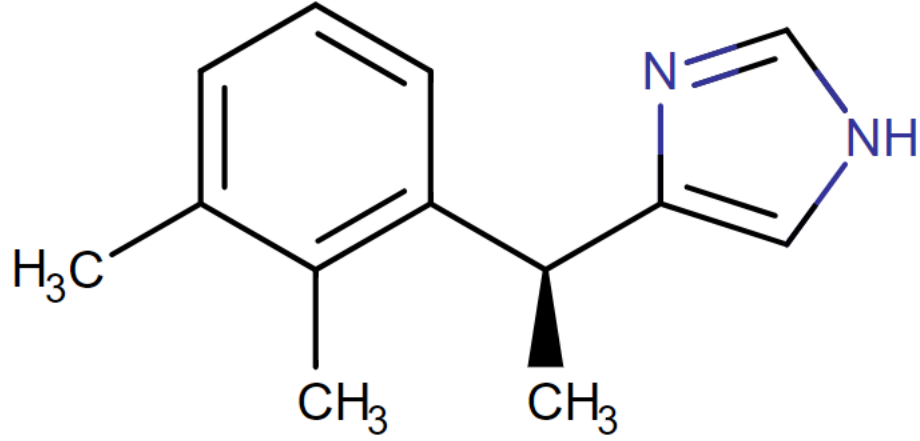
Bu çalışmada deksmedetomidinin indüklediği hiperterminin özellikle santral mekanizmasına yorum getirilmek istenmiştir. Bunun için; deksmedetomidine maruz bırakılan sıçanlardan elde edilen hipotalamus dokusunda LC-MS/ MS yöntemi kullanılarak proteomiks çalışılmış olup veriler biyoinformatik analiz aracılığı yorumlanarak hipotalamusta değişen protein profilleri incelenmiştir.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Deksmetomidin**

Veterinerlikte sedatif ve analjezik olarak kullanılan medetomidinin dekstro-enantiyomeridir. Moleküler formülü C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub> olan deksmedetomidinin açık kimyasal ismi 4-[(1S)-1-(2,3-dimethylphenyl) ethyl]-1H-imidazole şeklinde ifade edilmektedir.(şekil 1 )(10)

Deksmetomidinin suda özünür HCl tuzu şeklinde ticari formu mevcuttur. Ticari formları genellikle 200 mcg /2 ml konsantre çözelti şeklinde olup (Precedex ®, Pfizer, ABD) infüzyon halinde kullanımı için seyreltilmesi gerekmektedir. İnfüzyon şeklinde kullanılırken ilk 10 dakikada verilen 1 µg / kg yükleme dozunu takiben yoğun bakım sedasyonu için 0,2–0,7 µg/ kg /saat idame dozu önerilmektedir. Prosedürel sedasyon için, ilk 10 dakikada 1 µg / kg yükleme dozunun ardından 0,6 µg / kg / saat idame infüzyon dozu kullanılmaktadır. Etkin bir sedasyon için istenilen klinik etkiye göre 0,2- 1 µg / kg/ saat aralığındaki dozlarda titre edilerek kullanılması önerilmektedir.(11)



### Şekil 1. Deksmetomidinin Kimyasal Yapısı

Oldukça seçici ve güçlü bir  $\alpha_2$  adrenoseptör agonisti olan deksmetomidin, analjezik, sempatolitik ve solunum koruyucu özelliklere sahip benzersiz bir anksiyolitik olarak tanımlanmıştır.(12)

Alfa 2 adrenerjik agonist olarak ilk akla gelen ve onlarca yıldır kullanılan ajan klonidindir. Deksmetomidin Klonidinden daha büyük bir seçiciliğe sahiptir. Klonidin ve deksmetomidin  $\alpha_2$ :  $\alpha_1$  selektivite oranı sırasıyla 220:1, 1620:1'dir. Merkezi  $\alpha_1$  adrenoseptör aktivasyonu  $\alpha_2$  sedatif etkiyi azaltır. Deksmetomidin Klonidinden daha güçlü bir anksiyolitikdir.(13) Deksmetomidine bağlı sedasyonun en önemli özelliği; solunum üzerinde minimum etkisi ve hastaların kolaylıkla uyandırılabilirliği olmasıdır.(14)

#### 2.1.1. Farmakokinetik özellikler

##### 2.1.1.1. Emilim

Deksmetomidin sadece intravenöz (iv) kullanımı için onay almış olsa da son zamanlarda çok sayıda farklı uygulama yolu araştırılmaktadır. Ekstravasküler uygulama ile normalde iv uygulama sonrası yüksek plazma pik seviyelerinden kaçınılabılır. Oral uygulama sonrası %16 biyoyararlanım ile ilk geçiş etkisi gözlenir.(15)

Deksmedetomidin intranasal ve bukkal mukozadan iyi emilmektedir ve bu özellik pedyatrik ve geriatrik hastalarda sedasyon ve premedikasyon için kullanımını kolaylaştırmaktadır.(16) Sağlıklı gönüllülerde 84 µg deksmedetomidin intranasal tek doz sonrası maksimum plazma konsantrasyonuna uygulamadan 38 dakika sonra ulaştığı ve biyoyararlanımının %65 olduğu, çocuklarda tek doz intranasal uygulama sonrası biyoyararlanım %83.8 olarak bulunmuştur.(17)

#### 2.1.1.2. Dağılım

Deksmedetomidin proteine yüksek oranda bağlanır. Plazmada deksmedetomidinin %94'ü  $\alpha_1$  glikoprotein ve albümine bağlanarak taşınır. Radyoaktif etiketli deksmedetomidin ile yapılan çalışmalarda 6 dk distribüsyon yarı ömrü ile vücutta hızlı ve geniş bir dağılım göstermiştir. Pre-klinik hayvan çalışmalarında, deksmedetomidinin kan-beyin ve plasenta bariyerlerini geçtiği gözlenmiştir. Sağlıklı gönüllülerde kararlı durum dağılım hacmi (Vss) tahmini yaklaşık 1,16-2,16 L / kg (90-151 litre) dir. YBÜ popülasyonunda 24 saat ve üstü infüzyon sonrası plazma farmakokinetiği benzerdir. YBÜ popülasyonunda yarıömrü yaklaşık 1.5 saat, Vss yaklaşık 93 litre ve Cl (klirens) yaklaşık 43 l / saat olarak kabul edilir. Deksmedetomidinin farmakokinetiği, 0,2 ila 1,4 µg / kg / saat doz aralığında doğrusaldır ve 14 güne kadar süren tedavilerde birikmez. (11,18) YBÜ hastalarında Vss değerleri oldukça değişkendir ve 109 ila 223 L arasında ortalama dağılım hacimleri bildirilmiştir.(19,20) Deksmedetomidin kardiyovasküler sistem üzerine etkileriyle kendi farmakokinetiğini değiştirebilir. Yüksek dozlarda dağılımını bozan vazokonstriksiyona neden olabilir; bu yüzden lineer olmayan farmakokinetik sergiler.(21) Hipoalbuminemi gelişen YBÜ hastalarında uzun süreli infüzyonda Vss artmış olarak gözlenmiştir.(22,23)

Halihazırda uygulanan vücut ağırlığına göre ayarlanmış dozlar sadece obez olmayan hastalar için geçerlidir. Obez hastalar için yağsız kitle hesaplamaları daha uygun olacaktır.(24)

#### 2.1.1.3. Biyotransformasyon

Deksmedetomidin karaciğerde direk N-glukuronidasyon, direk N-metilasyon ve sitokrom P450 (CYP) katalizli oksidasyon ile yoğun olarak metabolize edilir. Hepatik ekstraksiyon oranı 0.7 olarak bulunmuştur.(25) Dolaşımdaki en bol

deksmedetomidin metabolitleri iki izomerik N-glukuroniddir. Deksmetomidine biyotransformasyonunun dolaşımdaki başlıca ürünü; H-1 N-metil 3-hidroksimetil Deksmetomidine O-glukuronid'dir. Sitokrom P450 enzimlerinin (esas olarak CYP2A6) aracılık ettiği hidroksilasyon insan karaciğer mikrozomlarında gösterilmiştir.(26) CYP ile 3-metil grubunda hidroksilasyon ile oluşan 3-hidroksimetil deksmedetomidin ve imidazol halkasında oksidasyon ile oluşan H-3 olmak üzere plazmada iki minör metabolit bulunur. Bu metabolitler  $\alpha_2$  reseptöre karşı olarak 100 kat daha az etkilidir, bu yüzden inaktif olarak değerlendirilirler.

Yüksek ekstraksiyon oranına sahip bileşikler için karaciğer kan akışı hepatik klirensi yöneten en önemli faktördür. Plazma protein seviyelerindeki değişiklikler ilacın artışına neden olmaz, fakat karaciğer yetmezliği deksmedetomidinin farmakokinetiği üzerinde etkilidir, doz seçerken dikkate alınmalıdır.(24)

#### 2.1.1.4. **Eliminasyon**

Metabolitler %95 oranında renal ve %4 oranında fekal olarak atılır. Sağlıklı gönüllülerde eliminasyon yarı ömrü 2,1-3,1 saattir. YBÜ hastalarında, yarılanma ömrü 2,2-3,7 saat arasında değişen benzer değerlerdedir. Sağlıklı yetişkin gönüllülerde deksmedetomidin klirensinin yaklaşık 0.6-0.7 L/dakika olduğu gösterilmiştir. YBÜ hastalarında (çoğunlukla post op) klirens, sağlıklı gönüllülerde bulunan klirens 0,53 ile 0,80 arasında değişir.(19,20) Hipoalbüminemili hastalarda eliminasyon yarı ömrü uzayabilir ya da kısalabilir. Klirens hipoalbüminemiden çok az etkilenir. (23)

Deksmetomidin idrarda 5p-difosfo-glukuronosiltransferaz (UGT2B10, UGT1A4) ile doğrudan N-glukuronidasyona uğrar. Ana üriner metabolitler, iki izomerik N-glukuronid ve N-metil 3 hidroksimetil deksmedetomidin O-glukuroniddir. Ana ilacın % 1'den azı metabolize olmadan idrarla atılır.(26)

### 2.1.2. **Farmakodinamik özellikler**

#### 2.1.2.1. **Santral sinir sistemi**

Deksmetomidinin sedatif ve hipnotik etkisine lokus seruleus (LC) ve spinal kord üzerindeki santral pre ve postsinaptik  $\alpha_2$  reseptörlerinin aktivasyonu aracılık eder. Alfa 2 agonistler L veya P tip kalsiyum kanallarında iyon iletkenliğini inhibe

eder ve kalsiyum ile aktive olan voltaj kapılı potasyum kanallarında iletimi hızlandırır. Alfa 2 agonistler direk endojen uyku teşvik yollarını kullanarak GABA reseptörleri üzerinden oluşturulan sedasyondan farklı bir patern sergilerler.(21) Sedasyonun ağır ama uyandırılabilir doğası, doğal uykuya çok benzer ve uzun uykusuzluk sonrası görülen derin 'recovery' uykusunu taklit eder. Her iki uykuda derin uykuya girmek için güçlü bir dürtü vardır.(27) Bu etkiyi ortaya çıkaran alan preoptik (PO) hipotalamustur. PO alan uykuda ve uyanıklıkta aktif, sıcaklığa duyarlı ve duruma kayıtsız nöronların biraraya geldiği, uykuyu başlatan ve / veya sürdüren ve vücut ısısını düzenleyen yollarını barındırır.(28) LC'den ventrolateral PO nükleusa projeksiyon aktivitesinde azalma oluştururak tüberomamiller nükleusta GABA'erjik ve galanin salınımını artırır. Sonuç olarak kortikal ve subkortikal projeksiyonlardan histamin salınımında azalmaya ve uyanıklığın azalmasına neden olur.(29)

Deksmetomidin kısa süreli uygulamada tolerans ve bağımlılık geliştirmez.(30) Hızlı opioid detoksifikasyonu, kokain geri çekilme semptomları, yoğun bakımda sedatif-analjeziklerle iatrojenik uzamış tedaviye bağlı toleransta kullanılır. Deksmetomidin psikomimetik ve sempatik geri çekilme semptomlarını başarılı şekilde kontrol eder, güvenli, sakin, rahat ve kooperatif hasta tedavisi sağlar.(31) Santral sinir sistemi koruyucu etkileri iyi tanımlanmamıştır.

Deksmetomidin doz bağımlı olarak hafızayı etkiler. Klinik sedasyonda kullanılan (0.7-1.3 ng/ml) dozlarda gösterilen resim kartları hatırlanırken infüzyon dozu 1.9 yükseltildiğinde hafıza zayıflamıştır.(32)

#### 2.1.2.2. **Revers etki**

Deksmetomidin ile sedasyona bağlı psikomotor bozulma atipamezol ile geri çevrilebilmektedir. (2) Deksmetomidinin neden olduğu kalp hızı ve kan basıncındaki azalma 15-150 µg /kg iv atipamezol ile hızla tersine döner. Daha yüksek atipamezol dozları (150 µg/kg) da sedasyonu tersine çevirir. Daha yüksek dozlarda veya hızlı infüzyon hızı ile kullanılırsa plazma norepinefrin düzeyinde 10 kat artış sağlayarak geçici ortosempatik aktivasyona neden olur. Atipemazol şu anda sadece veterinerlikte kullanılmakta olup insan çalışmaları az sayıdadır. Deksmetomidinin kullanımının artışı ile atipemazol ile ilgili klinik çalışmaların artması beklenmektedir. (33,34)

### 2.1.2.3. Analjezi

Alfa 2 agonistlerin analjezik etkisine santral  $\alpha_2$  bağlayıcı-reseptörlerinin ve dorsal boynuzdaki  $\alpha_{2C}$  ve  $\alpha_{2A}$  reseptörünün uyarılmasının aracılık ettiği düşünülmektedir. Ağrı iletimi, internöronların hiperpolarizasyonu, P maddesi ve glutamat gibi pronosiseptif transmitterlerin salınımının azaltılmasıyla baskılanır.(35) Deksmetomidinin analjezik etkileri hala belirsizdir. Sağlıklı gönüllülerde tek ajan olarak 1,23 ng/mL'ye kadar konsantrasyonlarda alfentanille kıyaslandığında deksmedetomidin ısıya veya elektriksel uyarılara yeterli analjezi sağlamamıştır.(36) Subanestezik sedatif ve hipotansif dozlarda sistemik medetomidinin tek başına ağrının şiddetini etkilemediği fakat ağrının duygusal-motivasyonel bileşenini hafifletebileceği gösterilmiştir.(36) Başka bir yandan deksmedetomidinin sistemik kullanımıyla ameliyat sırasında ve ameliyat sonrasında opioid gereksinimini azaltıcı etki sağladığı gösterilmiştir.(36,37) Deksmetomidin postoperatif YBÜ hastalarında narkotik gereksinimini %50 oranında azaltmaktadır.(38) Ayrıca inhalasyon anestezikleriyle beraber kullanıldığında MAK (Minimum alveolar konsantrasyon) değerini azaltmaktadır. (39).

### 2.1.2.4. Solunum sistemi

Spontan solunumda, sedasyon dozunda deksmedetomidin, dakika ventilasyon sayısını azaltır, ancak arteriyel oksijenasyonda, pH'da ve CO<sub>2</sub> ventilasyon yanıt eğrisindeki eğimde değişikliğe neden olmaz. Ortalama deksmedetomidin plazma konsantrasyonları 0,66 ng/mL ile sedatize edilmiş hastalarda hiperkapni ve hipoksiye solunum yanıtında önemli bir azalma beklenmektedir.(40)

Deksmetomidin normal uyku sırasında tarif edilen hiperkarbik uyarılma fenomeni sergiler. Remifentanil ve deksmedetomidinin normal gönüllülerde solunum parametreleri üzerindeki etkilerini karşılaştıran bir çalışmada ağırlı uyarana tepki olmayan dozlarda (2,4 ng/mL kadar) hiperkapniye bağlı solunum depresyonu gelişmemiştir, apne/hipopne indeksini artırmak yerine azalmıştır ve doğal uyku ile bazı benzerlikler göstermiştir.(41)

Hiperkapniye solunumsal yanıt yaş arttıkça azalmaktadır. Bu nedenle yaşlı hastalarda solunum depresyonu daha sık görülür.(42) Diğer sedatif, hipnotik veya analjezik ajanlarla birlikte uygulandığında sedatif etkinin artışına bağlı apne riski

artmaktadır.(42) Bu yüzden Dexdor® 2015 yılında klavuzuna deksmedetomidinin yalnızca sürekli kardiyak ve solunum monitorizasyonu olan yoğun bakım ortamında kullanılması gerektiğini eklemiştir.

#### 2.1.2.5. Kardiyovasküler sistem

Deksmedetomidin düşük plazma konsantrasyonlarında hipotansiyon ve daha yüksek plazma konsantrasyonlarında hipertansiyon görülen tipik bifazik hemodinamik yanıt ortaya çıkarır. İv bolus deksmedetomidinin uygulaması sonrası peak plazma konsantrasyonu, kalp hızında belirgin bir düşüş ve istemik vasküler dirençte belirgin bir artış ve kan basıncında artışa yol açar. Artan deksmedetomidin konsantrasyonları (0,7-15 ng / mL) sağlamak için hedef kontrollü infüzyon sistemi kullanılan çalışmada en düşük iki konsantrasyonda ortalama arterial basınç önce düşüş (%13) ve ardından aşamalı bir artış (%12) göstermiştir. Artan konsantrasyonlarda kalp atış hızında (maksimum %29) ve kalp debisinde (%35) aşamalı düşüş meydana gelmiş olması vasküler düz kaslardaki  $\alpha_2$  reseptör aktivasyonuna ve periferik vazokonstriksiyona ve dolayısıyla hipertansiyon oluşumuna bağlanmıştır. Buna muhtemelen baroseptör refleksinin neden olduğu kalp hızında hızlı bir azalma eşlik eder. Birkaç dakika sonra, deksmedetomidin plazma konsantrasyonları azaldığında vazokonstriksiyon azalır, çünkü deksmedetomidin vasküler endotel hücrelerinde  $\alpha_2$  reseptörlerini aktive eder ve bu da vazodilatasyona neden olur. Katekolaminlerin sempatik salımını inhibe eden presinaptik  $\alpha_2$  adrenoreseptörleri ve artan vagal aktivite ile birlikte hipotansif bir faz oluşur.(32,43)

En yaygın bildirilen hemodinamik advers reaksiyonlar hipotansiyon (% 30), hipertansiyon (%12) ve bradikardi (%9) dir.(2) Hipotansiyon ve bradikardi insidansı, hızlı intravenöz yükleme dozunun uygulanmasına bağlı olabilir. Yükleme dozunun atlanması veya 0,4  $\mu\text{g}$  / kg'dan fazla verilmemesi, hipotansiyon insidansını azaltır veya daha az belirgin hale getirir. Yükleme dozunun 20 dakikadan uzun verilmesi geçici hipertansiyonu en aza indirir.(44) İm ve iv uygulama sonrası birçok çalışmada hastaların küçük bir yüzdesinde derin bradikardi (<40 atım / dakika) ve bazen sinüs duraklaması görülmüştür. Genel olarak, bu epizodlar kendiliğinden düzelmiştir veya antikolinerjiklerle olumsuz sonuçlar olmaksızın kolayca tedavi edilmiştir 24 saatten fazla verildiğinde bile, deksmedetomidin infüzyonu kesildiğinde rebound görülmemiştir.(45) Klonidin ve deksmedetomidinin perioperatif oksijen tüketimini



azalttığından ve cerrahiye sempatik yanıtı köreltmesinden dolayı kardiyak sonuçları iyileştirmiştir.(46)(47)

Propofol ve remifentanil ile total iv anestezi sırasında deksmedetomidin infüzyonu alan hastalarda yapılan transözofagal ekokardiyografik değerlendirmelerde bozulmuş sistolik veya diyastolik fonksiyon görülmemiştir.(47) Yüksek deksmedetomidin plazma konsantrasyonları, sistemik ve pulmoner vasküler dirençte önemli artışa neden olur, bu da pulmoner ve sistemik hipertansiyonla sonuçlanır.(32) Özellikle kardiyak problemleri olan ve yeterli kalp debisini sağlamak için kalp hızı artmış hastalarda sınırlayıcı bir faktör olabilir. Gerekirse, yükleme dozunu azaltarak veya yükleme dozunun uygulandığı süreyi artırarak yüksek plazma konsantrasyonlarından kaçınılabilir.

### **2.1.3.Klinik kullanım alanları**

1999' da ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından (FDA), yoğun bakım ünitesinde entübe edilen ve mekanik ventilasyon desteği alan yetişkin hastaların kısa süreli sedasyonu (<24 saat) için ve 2008 'de ise cerrahi prosedürler sırasında entübe olmayan hastaların sedasyonu için onaylanmıştır.(2) 2011 yılından beri, sözel uyarıya yanıt olarak uyanabilecek seviyede sedasyona ihtiyaç duyan yetişkin YBÜ hastaları için Avrupa Birliği'nde onaylanmıştır.(Dexdor®; Orion Corporation, Espoo, Finlandiya) (10)

Farklı ülkelerde onaylanmış deksmedetomidinin endikasyonlarında farklılıklar mevcuttur. Ayrıca etiket dışı kullanım literatürde sıklıkla bildirilmektedir. Deksmetomidin artık yoğun bakım ünitesinde ve ameliyathanelerde yaygın olarak kullanılmaktadır, son yıllarda birçok olumlu fizyolojik özellikleri nedeniyle klinik uygulamaları büyük ölçüde genişlemiştir.(37)

#### **2.1.3.1. Prosedural sedasyon**

Sedasyon, hastanın tedavi ve bakım sürecinde endişelerinin azaltılması, sakinleşmesi, hareketsizleşmesi ve daha sonra hatırlamaması için oluşturulan uyku halidir.

Minimal solunum depresyonu ile anksiyoliz, sedasyon, analjezi ve sempatolizis sağlayan deksmedetomidin radyolojik veya invaziv prosedürler sırasında sakinleştirici olarak kullanılmak üzere A.B.D'de onay almıştır.

Solunum fonksiyonunu korunması, analjezik etki ve stabil hemodinami ile hafif sedasyon hali ve uyandırılınca hızla sağlanan kooperasyon oluşturma özelliği Deksmetomidini uyanık kraniotomi, derin beyin stimülasyonu, konuşma alanlarına yakın nöroşirurjik cerrahiler ve uyanık karotis endarterektomisi gibi cerrahi işlemler için ideal hipnotik ajan olarak uygun hale getirmektedir. (48)

Deksmetomidin ile çeşitli cerrahi ve diyagnostik işlemler sırasında sedasyon verilen 322 hastada plasebo ile kıyaslandığında 0,5 ve 1 µg / kg yükleme dozu alan deksmedetomidin gruplarında sırasıyla %40 ve %53 hasta kurtarıcı midazolama ihtiyaç duyulmamıştır.(49) Uyanık fiberoptik entübasyon çalışmasında, deksmedetomidin grubundaki hastaların %52'si plasebo grubundaki hastaların %14'ü kurtarıcı midazolama ihtiyaç duymamıştır.(50) Deksmetomidin, tükürük salgısını azaltır, solunum fonksiyonlarını korur bu yüzden uyanık fiberoptik entübasyon için ideal bir ajan olarak görülür. (48) Nöroşirürji prosedürlerinde, kortikal uyarılmış potansiyeller deksmedetomidinden minimal düzeyde etkilenir ve epileptiform aktiviteye izin vermektedir bu yüzden deksmedetomidin epilepsi cerrahisinde kullanılabilir. (51)

Ameliyattan 15 dakika önce 0.33 - 0.67 µg/ kg iv premedikasyon dozunda ciddi yan etkiler görülmeden anestezi den derlenme sağlanabilmektedir.(39)

İntraoperatif sedasyon için 1µg/ kg dozunda kullanıldığında deksmedetomidin propofole göre daha yavaş bir başlangıç gösterir. BIS değerini 70 ila 80 arasında tutmak için intraoperatif deksmedetomidinin ortalama infüzyon hızı 0,7 ug / kg / dk dır.(52)

#### 2.1.3.2. Yoğun bakım ünitesinde ajitasyon, anksiyete ve deliryum

Ajitasyon, hastanın kendisini ya da YBÜ de bakım verenlerin güvenliğini tehlikeye atan agresif sesli, sözlü ve/veya motor davranışlar sergilediği durumdur. Akut gelişen ajitasyon varlığında ya da YBÜ yatışı öncesinde demans şizofreni gibi bir psikiyatrik hastalık öyküsü bulunmuyorsa organik sebepler göz önünde bulundurulmalıdır. (53) Ağrı, ajitasyon ve deliryum yoğun bakım ünitesinde birlikte değerlendirilmesi gereken durumlardır. (54)

Anksiyete geleceği kontrol edememeye bağlı yetersizlik hissi, belirsizlik nedeniyle kaygı duyulmasına bağlı adaptif psikolojik bir yanıttır. (55) Anksiyetenin yoğunluk

ve süre açısından sık, aşırı ve mantıksız hale gelmesi patolojiktir, duygusal, davranışsal ve fiziksel değişikliklere yol açar.

İnvaziv girişimlere karşı yetersiz analjezi, yetersiz iletişim, ölüm korkusu, uyumayı güçleştiren ses, ışık gibi uyaranlar nedeniyle yoğun bakım hastalarında sıklıkla stres ve anksiyete görülmektedir. (54)

YBÜ hastalarında patolojik anksiyete tanı ve tedavinin reddine yol açabilir ya da fiziksel semptomları (taşikardi, angina) tıbbi hastalıkların klinik bulguları ile karıştırılabilir. Kritik bakım hastalarında anksiyete kardiyak ve solunumsal fizyolojiyi etkiler. Kalp yetmezliği, akut myokard enfarktüsü olan hastalarda sıkça görülen anksiyete istenmeyen kardiyak debi artışı ve taşikardi oluşturur.(56) Solunum frekansı, tidal volüm artışı, hiperventilasyona, senkopa ve mekanik ventilatörden ayrılma zorluklarına neden olabilir.(57)

YBÜ'de anksiyete tedavisi farmakolojik ve non farmakolojik olarak ayrılırlar. Eğitim, çevresel faktörlerin iyileştirilmesi, müzik tedavisi kullanılabilir. Sebebe yönelik destekleyici şartların oluşturulmasına rağmen anksiyolitik ve sedatif ilaç gerektiren durumlar oluşabilir.

YBÜ'de yaşlı hastalarda post operatif dönemde %4-75, mekanik ventilasyon altında takip edilen hastaların %83'ünde, spontan solunumda takip edilen hastaların yaklaşık %20'sinde ajitasyon ve deliryum tablosu gözlenmektedir.(1,58)

FDA deksmedetomidini sadece 24 saate kadar kullanım için onaylanmış olsa da yapılan son çalışmalarda yoğun bakım hastalarında 30 güne kadar infüzyon kullanımını güvenilir bulunmuştur. Mekanik ventilasyon desteği verilen yetişkin YBÜ hastalarında midazolam ve propofolün sedatif özellikleri deksmedetomidin (<1,4 µg /kg/saat) ile karşılaştırıldığında hafif-orta derecede sedasyon sağlamada, deksmedetomidinin midazolam veya propofol kadar etkili olduğu ve deksmedetomidin ile daha kısa ekstübasyon süresi bildirilmiştir.(59,60) Yoğun bakım ünitesinde sedasyonda uzun süreli deksmedetomidinin kullanımını geleneksel sedasyon ajanları ile karşılaştıran bir derlemede deksmedetomidin mekanik ventilasyon süresini %22 ve YBÜ'nde kalış süresini %14 oranında azalttığı ve mortalitede hiçbir farklılık olmadığı bildirilmektedir.(61)

Deksmetomidin ile sedasyonun fizyolojik uyku-uyanıklık döngüsünü koruyarak hastaların uyanık ve kooperatif olmaya devam ederek deliryum riskini azalttığı düşünülmektedir(62). Yapılan bir çift kör randomize kontrollü çalışmada, mekanik ventilasyon uygulanan 106 hastada, 5 gün infüzyon deksmetomidinin kullanımının lorazepam infüzyonuna kıyasla daha fazla komatöz ve /veya deliryumsuz gün ile sonuçlandığını göstermiştir.(63) Lin ve arkadaşlarının yaptığı bir meta-analizde kalp cerrahisinden sonra, deksmetomidin ile sedasyonun ve hızlı kesilme protokollerinin deliryum insidansını azalttığı bulunmuştur.(64)

### 2.1.3.3. İntranazal kullanım

İntra nazal kullanım, deksmetomidinin klinik pratikte en sık kullanılan extravenöz uygulama yoludur. Pediatrik hastalarda sedasyon ve premedikasyon için yarar sağlar. Geriatrik popoulasyonda efikası, güvenlik, tolerasyon, dozaj rejimleri ile ilgili daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Çocuklarda Miller ve ark. tek doz 1-2 µg/kg intranazal uygulama sonrası biyoyararlanım %83.8 olarak bir bulmuştur.(17) 1 µg / kg deksmetomidin 15-20 dakikada başlarken, intranazal 1 µg / kg deksmetomidin başlangıç süresi 30-45 dakikadır.(65) İntranazal midazolam, intranazal ketamin veya intranazal deksmetomidin pediatrik dış tedavilerinde başarıyla kullanılabilir. Bu üç etken madde karşılaştırıldığında intranazal deksmetomidinin etkisinin nispeten yavaş başladığı gözlenmiştir.(65,66)

3 yaşın altındaki 279 çocukta atomizer veya damla ile uygulanan 3 µg / kg intranazal deksmetomidini karşılaştırılmış ve her iki uygulama yöntemi ile eşit derecede etkili sedasyon gözlenmiştir.(16) 1-2 µg / kg intranazal deksmetomidinin çocuklarda entübasyonun neden olduğu stres yanıtını hafiflettiği bulunmuştur.(67) İntranazal 1-2 µg / kg deksmetomidin ile premedikasyon ayrıca laringeal maske yerleştirilmesi veya trakeal entübasyon için gereken minimum alveolar sevofluran konsantrasyonunu da azaltmıştır. (68,69)

#### 2.1.3.4. Santral ve periferik sinir blokları

Klonidin ve deksmedetomidin sıklıkla santral veya periferik nöral blokajın süresini uzatmak için adjuvan olarak kullanılmaktadır. %0.25 1 mL / kg bupivakain ile adjuvan olarak 1 µg / kg deksmedetomidin kullanılarak kaudal epidural blok altında inguinal herni onarımı yapılan çocuklarda, fitik kesesi traksiyonuna yanıt azaldığı ve postoperatif analjezinin uzadığı görülmüştür.(70) Abdallah ve ark. yaptığı bir meta-analizde spinal anestezi ile birlikte iv deksmedetomidin kullanıldığında duyuşal blok süresi en az %34, motor blok süresi en az %17 ve ilk analjezik talebine kadar geçen süre en az %53 artmıştır. Sistemik deksmedetomidin uygulamasının rejyonel anesteziyle sinerjik olarak etkileşime girdiğı düşünölmektedir.(71)

Ulnar sinir bloğunda %0,75 ropivakaine adjuvan olarak perinöral deksmedetomidin uygulandığında %60 oranında analjezik etkinin uzadığı gösterilmiştir. (72) İnterskalen pleksus bloğunda perinöral ve iv deksmedetomidini plasebo ile karşılaştıran bir çalışmada post op analjezi süresi perinöral deksmedetomidin, iv deksmedetomidin ve plasebo gruplarında sırasıyla 10,9; 9,8 ve 6,7 saat olarak bulunmuştur. Hem iv hem de perinöral deksmedetomidinin, motor blokajı uzatmadan interskalen blok analjezisini etkili bir şekilde uzatabildiğı sonucuna varılmıştır. (41) Bu etki muhtemelen miyelinsiz C-liflerinin (duyuşal) daha az ölçüde de A-liflerinin (motor) uzun süreli hiperpolarizasyonu ile ortaya çıkmaktadır.(2)

#### 2.1.3.5. Organ koruyucu özellikler

α 2 adrenerjik reseptörler karaciğer, akciğerler, böbrekler ve beyin gibi birçok organda bulunur. Hayvan çalışmalarıında, deksmedetomidinin renal inflamasyon yanıtlarını ve iskemi reperfüzyon hasarını azalttığı, uzun süreli fonksiyonel renoproteksiyonu ve hatta nefrektomiye takiben sağkalımı arttırdığı görölmektedir. (73,74) Pro-survival kinazların aktivasyonu(75), oksidatif ve inflamatuvar yanıtların modifikasyonu(76) ve endotelyal nitrik oksit sentazın aktivasyonu (77) gibi çeşitli mekanizmalar ile nöroprotektif ve kardiyoprotektif özellikleri bildirilmiştir. Hayvan çalışmalarıında, deksmedetomidinin potansiyel olarak genel anestezi ajanlarının neden olduğı nöro-apoptoza karşı koruyuculuğı gösterilmiştir.(78,79) İndüklenmiş serebral iskemi ve reperfüzyonun hayvan modellerinde, azalmış serebral katekolamin

ve glutamat salınımı ve apoptoz düzenleyici proteinlerin modülasyonundan kaynaklı daha iyi nörolojik sonuç ve daha az serebral nekroz bulunmuştur.(80,81)

## 2.2. Termoregülasyon

### 2.2.1. Tanım

Termoregülasyon, bir organizmanın iç sıcaklığının, dış ortam sıcaklığından etkilenmeksizin belirli bir aralıkta tutulması olarak tanımlanır. Çevre koşullarının değişmesi halinde canlıda ısı kaybı ya da aşırı ısınma görülebilmektedir. Bu nedenle canlı organizmada hayatta kalmak için ısı kazanımını ya da kaybını sağlamaya yönelik bazı mekanizmalar bulunmaktadır.

### 2.2.2. Normal Vücut Isısı

Normal vücut ısısı core ısı (derin dokulardaki ısı) ve cilt ısısından meydana gelir. Core ısı gün içerisinde 1F(Fahrenheit)(0,6°C) azalıp artabilmekle beraber çok stabil seyretmektedir. Core ısının aksine cilt ısısı çevre sıcaklığı ile birlikte azalır ya da artar.

**Normal Core Isı:** Normal core ısı oral olarak ölçüldüğünde 98-98,6 F olarak kabul edilir. Rektal ölçüm yapılırsa bu değerler 1 F fazla çıkmaktadır.

Vücut sıcaklığı ısı kaybıyla eş zamanlı olarak ısı üretimi ile kontrol edilir. Isı üretimini sağlayan mekanizmalar

1. Vücut hücrelerinin bazal metabolizma hızı
2. Kas aktivitesine veya kontraksiyonuna bağlı metabolizma
3. Tiroksin veya diğer hormonal etkilere bağlı metabolizma
4. Sempatik simülasyona bağlı metabolizma
5. Hücre içerisinde kimyasal aktivite artışına bağlı metabolizma
6. Besinlerin sindirim emilim ve atılımına bağlı metabolizma

### 2.2.3. Isı kaybı sağlayan mekanizmalar

Vücut ısısının esas üretildiği yerler beyin karaciğer böbrek gibi organlar ve iskelet kaslarıdır. Vücutta ısı kaybı ısının cilt aracılığı ile dış ortama aktarılması ile sağlanır. Bu nedenle ısı kaybının hızı ısının üretildiği bölgenin cilde uzaklığı ve cilt altındaki dokuların özelliğine bağlıdır. Deri, deri altı dokular ve yağ dokusu vücutta izolasyon görevini görür. Bu sistem cilt sıcaklığının çevre ısısına yakın olmasını sağlarken vücut core ısısının korunmasında önemli rol oynar.

Vücut iç ısısının cilde aktarımı büyük oranda deri altına yaygın olarak yerleşmiş venöz plexus sayesinde kan akışı ile sağlanır. Cilt vücutta etkili bir ısı radyatör sistemidir ve cilde kan akışı ısı transferindeki en önemli mekanizmadır.

#### 2.2.3.1. Deri yüzeyinden ısı kaybı

Deri yüzeyinden ısı kaybı 4 şekilde gerçekleşir.

1.Radyasyon: Birbiri ile temasta olmayan iki cisim arasındaki ısı alışverişidir. Çıplak şekilde oda ısısında oturan birinde ısı kaybının %60'ı radyasyon ile sağlanır. Radyasyon yoluyla ısı kaybı bir tür elektromanyetik dalga olan kızılötesi ışınları ile ısı kaybıdır. Vücut ısısını dengelemek için vücuttan çıkan ısı dalgaları her yöne dağılır.

2.Kondüksiyon: Birbirine değen iki cisim arasındaki ısı alışverişidir. Kondüksiyon yoluyla vücut ısısının %3'ü nesnelere, %15'i de havaya ısı iletimi şeklinde gerçekleşir.

3.Konveksiyon: Hava akımı yoluyla ısı kaybına denir.

4.Evaporasyon: Buharlaştırma yolu ile ısı kaybıdır. Su vücut yüzeyinden buharlaştığında buharlaşan her gram için 0,58 kalori ısı kaybedilir. Terleme olmadığında ise akciğerden 700 ml kadar su buharlaşır. Buna insensible evaporasyon denir. İnsensible ısı kaybını düzenleme mekanizması bulunmazken terleme ile ısı kaybı çeşitli mekanizmalarla kontrol edilir.

### 2.2.3.2. Terleme

Beyindeki hipotalamus ön bölümdeki pre optik bölgenin aşırı ısı ile uyarılması terlemeye neden olur. Bu bölgeden çıkan sinirsel uyarılar otonom yollardan omuriliğe oradan sempatik ileti ile cilde ulaşır. Ter bezleri kolinerjik lifler ile uyarılır ve asetilkolin salgılar. Ter bezleri adrenerjik bezler değildir, fakat kanda dolaşan epinefrin ve norepinefrin de ter bezlerini bir miktar uyarır. Adrenal medulladan epinefrin veya norepinefrin salınımı egzersiz sırasında iskelet kaslarında üretilen aşırı ısının kaybında önemli bir mekanizma görevi görür.

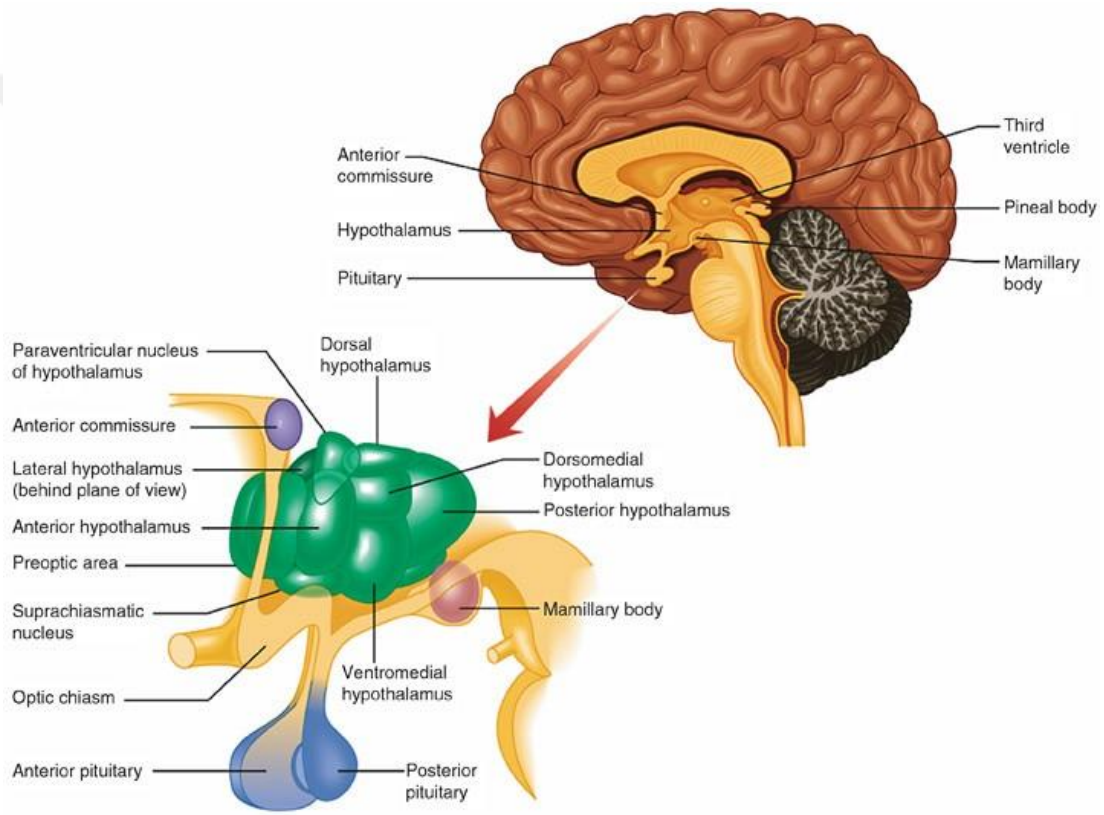
Ter bezleri iki bölümden oluşur; ter salgılayan subdermal sarmal kısım ve dermis ve epidermisten dışarı uzanan kanal. Ter bezlerinin üzerinde veya etrafında bulunan kolinerjik sempatik liflerin uyarılması ile ter sekresyonu meydana gelir. Pek çok bezde olduğu gibi sarmal kısım öncü ya da birincil salgı adı verilen sıvıyı salgılar. Birincil salgı sarmal kısımdaki epitelyal hücrelerin ürünüdür. Birincil salgının bileşenleri plazmaninkilerle benzerdir, fakat plazma proteinlerini içermez. Na içeriği 142 mEq / L, Cl içeriği 104 mEq / l'dir. Bu akışkan sıvının bileşenleri kanal içerisinde geçerken değiştirilir. Geçiş esnasında Na ve Cl iyonlarının çoğunun geri emilimi gerçekleşir. Ter bezleri hafif uyarıldığında birincil sıvı yavaşça kanaldan geçmeye başlar. Ter içeriğinin Na ve Cl konsantrasyonu 5 mEq / L'ye düşer. Ter sıvısının osmotik basıncı bu sayede oldukça düşmüş olur sonuçta terdeki suyun da çoğunluğu geri emilir ve ürik asit, K, laktik asit gibi bileşenler konsantre şekilde ter sıvısında kalmış olur. Ter bezleri sempatik sistem tarafından güçlü şekilde uyarıldığında ise fazla miktarda birincil salgı oluşur. Kanala geçen salgının Na ve Cl iyonlarının sadece yarısından biraz fazlası geri emilebilir. Birincil sıvı kanaldan hızla aktığı için de suyun da çok az bir kısmı geri emilebilir. Böylece diğer bileşenlerin (K, laktik asit, ürik asit) de ter içerisindeki yoğunluğu azalmış olur. Bu nedenle egzersiz öncesi ısınma hareketleri yapılmadığında vücuttan büyük oranda sodyum klorür ve su kaybı gerçekleşir.

### 2.2.3.3. Termoregulator merkez: Hipotalamus

Vücut sıcaklığını arttıran veya azaltan thermod kullanılarak yapılan hayvan deneylerinde beyin hangi bölgesinin ısı değişikliğinden etkilendiği gösterilmeye çalışılmıştır. Küçük iğne benzeri bu cihaz (thermod) sıcak veya soğuk su vererek ısı



değişikliğine sebep olur. Bir termodun neden olduğu ısı artış veya azalışında etkilenen başlıca alanlar hipotalamus anterior ve pre optik çekirdekleridir. Bir termod kullanılarak ön hipotalamik preoptik alanın sığağa duyarlı nöronları ve soğuga duyarlı nöronların yaklaşık üçte birini içerdiği bulunmuştur. Bu nöronların vücut sıcaklığının ayarlanmasında ısı sensörü olduğu kabul edilmiştir. (Şekil 2) Pre optik alanda ısı artışı olduğunda cilt altındaki damarlarda dilatasyon meydana gelir ve hızla ter üretimi başlar. Ayrıca vücutta ısı üretimine neden olan mekanizmalar inhibe edilir.



**Şekil 2. Hipotalamus anatomisi ve preoptik alan (82)**

#### **2.2.3.4. Deri ve derin dokulardaki reseptörlerin vücut ısısını ayarlamadaki rolü:**

Vücut sıcaklığının değişimine duyarlı reseptörlerin çoğu hipotalamustadır, ancak vücudun diğer bölgelerinde yer alan reseptörler de sıcaklığın ayarlanmasında rol oynar. Bunlar özellikle deri ve derin dokulardaki ısı reseptörleridir. Ciltte sıcak

reseptörlerinden on kata daha fazla oranda soğuk reseptörleri bulunmaktadır. Bu nedenle periferel reseptörler daha çok soğuğa duyarlıdır. Soğuğa maruz kalındığında ciltte refleks mekanizmalar uyarılır ve vücut ısısı çeşitli yollarla arttırılmaya çalışılır: titreme ile vücut ısısında artış, terlemenin inhibisyonu, vazokonstrüksiyonun sağlanması ile ısı kaybının önlenmesi. Derin dokulardaki ısı reseptörleri ise başlıca spinal kord, abdominal visera ve üst abdomen ile torakstaki büyük venlerin çevresinde bulunur. Buradaki reseptörler cilttekilerden farklı olarak vücut core ısısı ile uyarılırlar. Bu reseptörler de cilttekiler gibi daha çok soğuğa karşı duyarlıdır. Sonuç olarak cilt ve derin dokulardaki reseptörler daha çok hipotermiye karşı koruyucu etki göstermektedir.

Posterior hipotalamus santral ve periferden gelen ısı uyarılarını birleştirir. Uyarılan posterior hipotalamik alan bilateral olarak mamillar cisim yakınlarında yer almaktadır. Periferden gelen ısı uyarılarını büyük oranda hipotalamus aracılığı ile vücut ısısının ayarlanmasına katkı sağlar. Ön hipotalamik pre optik alandaki duysal uyarılar da posterior alandan geçmektedir. Bu bölgede ön hipotalamus ve vücudun diğer bölgelerinden gelen ısı uyarılarını birleştirilerek vücuttaki ısı kaybı ve üretim mekanizmaları kontrol edilmektedir.

#### 2.2.3.5. Nöronal mekanizmalar

##### *1. Vücut sıcaklığını azaltan mekanizmalar*

-Derideki kan damarlarının vazodilatasyonu: Posterior hipotalamustaki vazokonstrüksiyona neden olan sempatik merkez inhibe edilir. Vazodilatasyon ile ciltten ısı transferi başlamış olur.

-Terleme: Terlemenin başlaması ile evaporasyon yoluyla ısı kaybı hızla başlar.

-Isı üretiminin inhibisyonu.

##### *2. Vücut ısısını arttıran mekanizmalar*

-Tüm vücutta ciltte vazokonstrüksiyon: Posterior hipotalamik sempatik merkezi uyarır.

-Piloereksiyon: Uç kısımlardaki kılların dik konuma gelmesidir. Sempatik uyarı ile gerçekleşir. İnsanlarda çok önemli bir mekanizma değildir. Özellikle yüzey alanı küçük olan hayvanlarda ısı kaybını önlemede bariyer görevi görür.

-Isı üretiminin arttırılması: Sempatik uyarı, titreme ve tiroksin sekresyonu ile ısı üretimi arttırılır.

#### **2.2.4. Isı artışı sağlayan mekanizmalar**

##### 2.2.4.1. Titreme ve hipotalamus

Üçüncü ventrikül duvarının yakınında yer alan posterior hipotalamusun dorsomedial alanında titremenin primer motor alanı bulunmaktadır. Bu alan normalde anterior hipotalamik pre optik alan tarafından inhibe edilmiştir. Cilt veya spinal kordtan gelen soğuk uyarılar ile uyarılmaktadır.

##### 2.2.4.2. Sempatik kimyasal uyarı

Sempatik stimülasyonun artışı, kanda epinefrin veya norepinefrin artışı hızla hücrel metabolizma hızında artışa neden olur. Buna kimyasal termojeniz denir. Epinefrin ve norepinefrinin neden olduğu oksidatif fosforilasyonda ısı üretimi olur fakat ATP üretimi olmaz. Buna uncoupled oksidasyon denir. Hayvanlarda meydana gelen kimyasal termojeniz kahverengi yağ dokusuyla orantılı olarak gerçekleşir. Yağ dokusunda uncoupled oksidasyonun gerçekleştiği özel mitokondriler bulunmaktadır. Bu özel mitokondriler sempatik uyarı ile güçlü bir şekilde uyarılır. Kahverengi yağ dokusu olmayan erişkin bir insanda kimyasal termojeniz ile ısı üretim oranı çok düşüktür. Fakat yenidoğanlarda interscapular bölgede bulunan kahverengi yağ dokusu kimyasal termojeniz aracılığı ile vücut ısısının korunmasında önemli rol oynar.

##### 2.2.4.3. Tiroksin salınımı

Anterior hipotalamik alan tarafından ısı azalmasının algılanmasıyla nörosekretuar bir hormon olan tirotropin releasing hormonun salınımı uyarılır. Bu hormon hipotalamik portal venler aracılığı ile anterior pituitar beze taşınır ve tiroit stimulan hormon (TSH) salınır. TSH tiroit bezi tarafından tiroksin salınımını artırır.

Tiroksin hormonu kimyasal termogeneze katkı sağlayan hücresel metabolizmayı arttırarak ısı artışına neden olur. Bu süreç tiroit bezinin uzun süre uyarılıp hipertrofiye uğraması sonucu gerçekleştiğinden birkaç haftayı bulur. Hayvan hücrelerinin uzun süre aşırı soğuğa maruz kalmasıyla tiroit bezi hacminde %20-40 artış meydana gelir. Ancak insan vücudunda hayvanlar kadar uzun sürecek şekilde soğuğa maruz kalınmasına izin verilmez. Bu nedenle tiroit bezinin soğuğa uyum mekanizmasının insanda ne derece önemli olduğu halen bilinmemektedir.

### **2.2.5.Ayar noktası**

Vücut sıcaklığı 37,1 santigrat derece olduğunda vücutta ısı artış ya da azalış mekanizmaları devreye girmektedir. Bu sıcaklığın üzerindeki bir değerde ısı kayıp mekanizmaları daha baskınken altındaki değerde ise ısı artış mekanizmaları devreye girer. Dolayısı ile sıcaklık 37,1 derece olarak sabit tutulmuş olur. Bu sıcaklık seviyesine sıcaklık kontrol mekanizmasının ayar noktası denir. Tüm sıcaklık kontrol mekanizmaları vücut sıcaklığını sürekli olarak bu ayar noktası seviyesine getirmeye çalışır.

### **2.2.6.Feedback kazancı**

Feedback kazancı bir kontrol sisteminin etkinliğinin ölçüsüdür. Vücut sıcaklığının kontrolünde ortam ısısında değişmelere sebep olsa da vücut iç ısısının sabit tutulması önemlidir. Feedback kazanç çevre ısısındaki değişimin vücut iç ısısındaki eksi 1 derecelik değişime oranına eşittir. Araştırmalar çevre sıcaklığındaki 25-30 derece değişimin vücut ısısında 1 derecelik değişime neden olduğunu göstermiştir.

### **2.2.7.Davranışsal kontrol**

Vücut sıcaklığını kontrol eden mekanizmalara ek olarak sıcaklığın kontrolüne katkı sağlayan güçlü bir davranışsal mekanizma vardır. Bu mekanizma şöyle işler; vücut ısısı çok arttığında beyindeki ısı kontrol merkezlerinden gelen sinyaller psişik olarak kişiye ısınma hissi gönderir. Vücut çok soğuduğunda ise gelen sinyaller ile soğuk rahatsızlığı hissi oluşur. Sonuç olarak sıcak bir ortama geçmek veya kalın giysiler giymek gibi davranışsal tedbirler ortaya çıkar.

### **2.2.8.Lokal cilt sıcaklığı refleksleri**

Kişi ayağını sıcak birşeye değdirdiğinde ayak tabanında lokalize vazodilatasyon ve hafif terleme, soğuga değdirdiğinde ise vazokonstrüksiyon ve terlemenin inhibisyonu gerçekleşir. Bu tepkiler ısı değışikliğinin kan damarları üzerine etkisi ve deri aracılığı ile omuiliğe iletilen lokal refleksler ile olur. Bu lokal reflekslerin yoğunluğu merkezi beyin sıcaklık kontrolü tarafından ayarlanır. Sonuç olarak genel etki hipotalamus ısı kontrol sinyali ve lokal sinyal çarpımı ile doğru orantılıdır. Bu sayede vücudun lokal olarak ısınan ve soğuyan bölgelerinden aşırı ısı alışverişini önler.

### 2.2.9. Patofizyoloji

Vücut sıcaklık düzenlemesinde bozukluklar ateş, hipertermi ve hiperpireksi olarak üçe ayrılırlar ve farklı anlamları olan terimlerdir.

**Tablo 1. Normal ve ateşli vücut ısı aralıkları (rektal ölçüm) (83)**

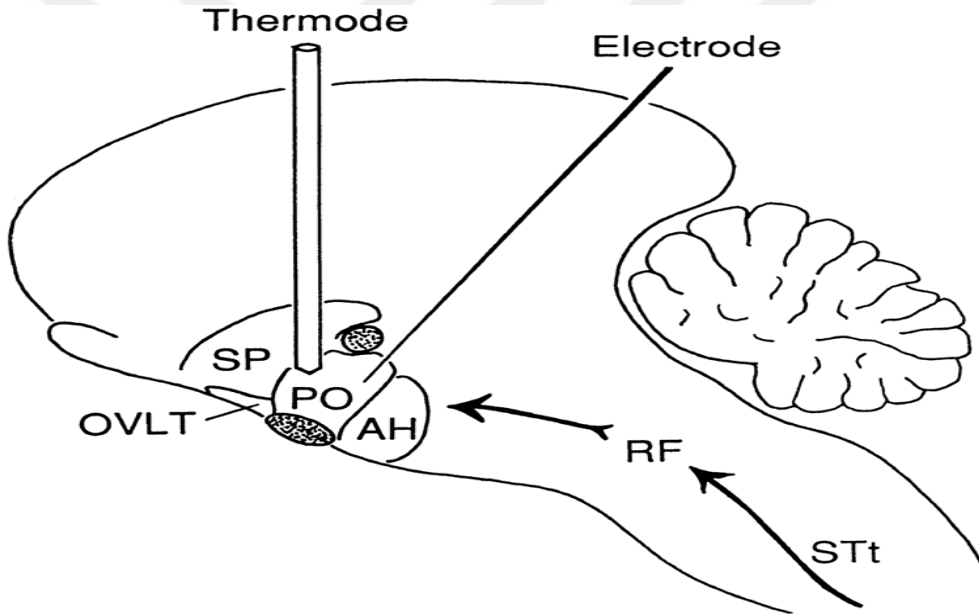
Vücut sıcaklığı	°C	°F
Normal	37–38	98.6–100.4
Hafif /düşük grade ateş	38.1–39	100.5–102.2
Orta grade ateş	39.1–40	102.2–104.0
Yüksek grade ateş	40.1–41.1	104.1–106.0
Hiperpireksi	>41.1	>106.0

#### 2.2.9.1. Ateş

Ateş vücut sıcaklığının normalin üstüne çıkması anlamına gelir ve hipotalamus düzeyinde düzenlenir. Birden fazla bağımsız afferent ve efferent mekanizma ile ateş oluşmaktadır. Ateş yanıtının oluşumunda rol oynayan çeşitli biyolojik moleküller ve bu yanıtlarda yer alan yollar mevcuttur.(31) Genellikle beyindeki anormalliklere veya hipotalamik termoregülasyon merkezini etkileyen toksinlere bağı olarak gelişir. Özellikle lipopolisakkarit gibi bakteri parçalanma ürünleri dolaylı olarak IL-1 aracılığıyla ya da enterotoksinler direk hipotalamustaki termostatın "ayar noktası"nın "normotermi" den yüksek seviyelere yükseltilirler. Bu

maddelere genel olarak pirojen ismi verilmiştir. Ekzojen ve endojen pirojenler tarafından oluşturulan ateş sinyalleri, humoral ve nöral yolla termoregülasyonu düzenlerler.(84–86)

Humoral yolda ateş sinyalleri, patojenle ilişkili moleküler paternler (PAMPS) olarak adlandırılan mikrobiyal ürünlerin bileşenleri veya pirojenik sitokinler tarafından tetiklenir. Endotoksin, stafilokokal enterotoksin ve virüsler gibi ekzojen uyarılar, lökositlerin endojen pirojen üretmesine neden olurlar. Bu endojen pirojenlerin en güçlüleri IL-1 ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF- $\alpha$ ) (87). Ateşli yanıtın ayrılmaz parçası olan diğer endojen pirojenler IL-6 ve interferonlardır(88). Bu endojen pirojenler, lamina terminalis organum vaskulosum (OVLT) seviyesinde merkezi sinir sistemi üzerinde etki eder. OVLT, preoptik çekirdeğin medial ve lateral kısımları, anterior hipotalamus ve septum pallidum arasındaki alandır.(Şekil 3)(89)



**Şekil 3. Lamina terminalis organum vaskulosum (OVLT)**

Dolaşımdaki PAMPS'ler çeşitli hücrelerde toll benzeri reseptör 4 (TLR-4) 'e bağlanmaktadır (90). OVLT seviyesinde kan beyin bariyerinde pencereci kılcal damar çeperinde yer alan TLR-4'e bağlanarak aktive eder ve sitoplazmik membranlardaki araşidonik asit yolağınınından prostaglandin E2 (PGE2) salınımına yol açarlar. Prostaglandin E2, kan beyin bariyerinden kolayca difüzyonla geçebilen preoptik alandaki spesifik PGE2 reseptörlerine (EP3 reseptörü) bağlanabilen ve

daha sonra ön hipotalamustaki nöronları daha yüksek termal denge noktasına çıkarabilen küçük bir moleküldür. (90–92)

Ateş yanıtı, erken bir hızlı faz ve gecikmiş bir geç faz ile karakterizedir. İlk faz karaciğer ve akciğerlerde sentezlenen PGE2'ye bağlı olduğu, ikinci fazın ise santral sentezlenen PGE2 ye bağlı olduğuna inanılmaktadır.(93) Sonuç olarak, periferik sentezlenmiş PGE2 ateşli tepkiyi başlatmada rol alırken, santral olarak sentezlenmiş PGE2 büyük ölçüde bunun sürdürülmesinde rol oynar.(94)

İkinci hüморal yolak, dolaşımdaki pirojenik sitokinlerin ateş sinyallerini direk ve indirek yollarla termoregülatuar bölgeye iletilmesidir. İndirek yolda, pirojenik sitokinler, sirkumventriküler organın fenestralı kapillerlerinde yer alan sitokin reseptörlerini bağlayarak ve aktive ederek PGE2'nin salınmasına neden olur. Direk yolda, dolaşımdaki sitokinler, beyin vasküler, glial ve nöronal yapılarında eksprese edilen sitokin reseptörlerine kan beyin bariyerini aşarak doğrudan erişim sağlar. Bu santral reseptörlerin aktivasyonu, PGE2'nin daha fazla sentezini uyarır veya beyin tarafından daha fazla sitokinin *de novo* sentezini destekler. (83,92)

PGE2 temelli yollardan bağımsız olarak birçok sitokin ve inflamatuvar mediatör ateşli yanıtı aktive edebilir. Bu durum santral sinir sistemi enfeksiyonlarında ve kanamalarında görülen hiperpireksiden (merkezi ateş) sorumludur. Bradikinin, kortikotropin releasing hormon, nitrik oksit, MIP-1, IL-6 ve IL-8, önceden oluşturulmuş pirojenik faktörler (PFPF), P maddesi ve endotelin-1, PGE2'den bağımsız termal denge noktasını sıfırlayan sitokin ve inflamatuvar araçılara örnek gösterilebilir.(86)

Periferik ateş sinyalleri, kutanöz duyu sinirleri ve vagus siniri gibi periferik sinirler aracılığıyla SSS'ye ulaşabilir ve ateş yanıtının hızla başladığı başka bir mekanizmaya sahiptir.

İnflamasyon bölgesine lokalize PGE2, soğuga duyarlı kutanöz sinirleri aktive ederek ateş oluşumuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Ateş sinyallerinin vagus siniri yoluyla iletimi daha karmaşıktır. LPS gibi dolaşımdaki pirojenler ve pirojenik sitokinler endojen mediatörler üretmek için karaciğerin Kupffer hücrelerini uyarır. Bu sitokinler, vagus sinirinin hepatik dalını aktive eder ve ateş sinyallerini, traktus solitarius (NST) çekirdeği içindeki vagus siniri bölgesinin merkezi projeksiyonuna iletir. NST'den sinyal, ventral noradrenerjik demet yoluyla preoptik ve hipotalamik

alanlara ilerler ve norepinefrinin intrapreoptik salınımına neden olur. Norepinefrin, çekirdek sıcaklık artışı için alfa(1)-adrenoseptör (AR) aracılı, hızlı başlangıçlı, PGE2'den bağımsız olarak ve alfa(2)-AR aracılı, gecikmeli ve PGE2'ye bağımlı olarak iki uyarı sağlar (84,86)

Araşidonik asitten prostaglandin oluşumunu engelleyen ilaçlar (antipiretik) PGE2 üzerinden etki gösterirler. Hipotalamik ayar noktası yükseldiğinde, vücut sıcaklığını yükseltecek tüm mekanizmalar harekete geçer ve ısının korunması önplana çıkar. Vazokonstriksiyon, ellerde ve ayaklarda soğukluk hissine sebep olur. Kan, periferden iç organlara yönlendirilir, bu da esas olarak ciltten ısı kaybını azaltır ve hasta üşüme hisseder.

Kaslardan ısı üretimini artırmak için titreme oluşabilir, ancak her ateş için titreme gerekli değildir. Titreme, hipotalamik ayar noktasında hızlı bir yükselme olduğunda ortaya çıkar. Yağ dokuda termojenez çekirdek sıcaklığın artmasını sağlar ve "titremeyen termojenez" olarak adlandırılır. Doğumda fazla miktarda olan termojenik kahverengi yağ dokusu yenidoğan döneminde hızla azalır, yetişkinlerde miktarı yok denecek kadar azdır. Yağ veya kas dokudaki termojenez, proteinlerin ayrışması sonucu adenosin trifosfat (ATP) ve ısı açığa çıkarır. Ateşin çoğununu ısı koruma ve termojenez kombinasyonu sağlar.

İnsanlarda sıcak ortam arayışı, fazladan kıyafet giyme ve aktiviteyi azaltıcı davranışsal içgüdüler ile yüzey alanı azaltılması vücut ısısının yükselmesine yardımcı olur. Isı koruma (vazokonstriksiyon), ısı üretimi (titreme, titremeyen termojenez, artan metabolik aktivite) ve davranış değişiklikleri ile kan ısısı hipotalamus ayar noktası ısısına erişene kadar devam eder. Bu noktaya ulaşıldığında, hipotalamus, normotermik seviyede olduğu gibi, yeni sıcaklık değerini korumaya çalışır.

#### 2.2.9.2. **Hiperpireksi**

Hiperpireksi, şiddetli enfeksiyonlarda görülebilen, en sık merkezi sinir sistemi kanamaları olan hastalarda görülen olağanüstü yüksek ateş (> 41,5 ° C) için kullanılan bir terimdir.(95) Hiperpireksik ateşte antipiretikler ile bereber periferik ısı



kayıplarını hızlandırmak için soğutma battaniyeleri ve soğuk su süngeri de kullanılmaktadır.

### 2.2.9.3. **Hipertermi**

Yüksek vücut ısısı çoğu zaman ateş olarak adlandırılrsa da hipertermi daha farklı bir mekanizma ile oluşmaktadır. Ateşten farklı olarak, hipertermi sırasında termoregülasyon merkezinin sıcaklık ayarı normotermik seviyelerde değişmeden kalır ve vücut sıcaklığı kontrolsüz şekilde artar. Yaşamı tehdit edecek yüksek iç sıcaklıklara çevresel ısıya maruziyet ve endojen ısı üretimi ile ulaşılır. Ateş ve hipertermi arasında ayırım yapmak önemlidir. Hipertermi teşhisi genellikle ilaç maruziyeti ve çevresel sıcaklık maruziyeti öyküsü ile yapılabilmektedir. Cilt genellikle sıcak ve kurudur, antipiretiklere yanıt azdır. Hipertermi tedavisi ateşten farklıdır ve daha hızlı müdahale gerektirmektedir. Hipertermi en çok sıcak ortamlarda çalışan veya egzersiz yapan ve çevresel mekanizmaların kaybedebileceğinden daha hızlı ısı üreten kişilerde görülür. Dehidratasyon, hiperterminin başlıca nedenidir. Sıcak çarpması sendromları, bazı metabolik hastalıklar ve termoregülasyonu bozan bazı farmakolojik ajanların etkisiyle oluşan hipertermiye örnek gösterilebilir.(96)

Hipertiroidizm gibi bazı metabolik hastalıklar, çekirdek sıcaklıkta hafif yükselmelere neden olabilir. Atropin gibi terlemeyi veya vazodilasyonu engelleyen farmakolojik ajanlar çekirdek sıcaklığını yükseltebilir. Ecstasy(3,4-metilendioksimetamfetamine) ısı dağılımındaki (vazokonstriksiyon) kayıptan ve ayırıcı protein 3 yoluyla ısı üretimindeki kaynaklanan hipertermi üretir.(97)

### 2.2.9.4. **Yoğun bakımda non enfeksiyöz nedenlere bağlı ateş**

Yoğun bakıma yatışı sırasında tüm hastaların neredeyse yarısında ateş bulgusu görülmektedir.(98) Ateşin tek nedeni sepsis değildir ve hastane içinde görülen ateşin üçte ikisi bulaşıcı olmayan nedenlere bağlı olabilir. Enfeksiyonun dışlandığı ateş vakalarının %97'sine tanı konulamayabilir.(99) Non enfeksiyöz ateşin mortalite oranı, sepsisten daha düşük olmasına rağmen yüksek sıcaklığa bağlı kötü bir sonuçlar nedeniyle önemini korumaktadır.(100) Septik olmayan hipertermi nedenleri aşağıdaki tabloda sıralanmıştır (Tablo 2)(101,102)

**Tablo 2.**Septik nedene bağlı olmayan hipertermi nedenleri

**Hipertermik ilaç reaksiyonları**

**Sıcak arpması**

**İmmünolojik ve enflamatuar hastalıklar**

**Malignite**

**Metabolik bozukluklar (gut, porfiri vs)**

**Uyumsuz kan ürünlerine reaksiyon**

**Doku yıkımı (örn. Hemoliz, cerrahi, enfarktüs, rabdomiyoliz)**

**Trombo-embolik durumlar**

**Post operatif ateş**

**Akalküloz kolesistit**

**2.2.10. İlaç bağlı hipertermik reaksiyonlar**

Hemen hemen tüm ilaçlar ateşe neden olabilirler fakat yoğun bakım ünitesinde en sık ateşe neden olan ilaçlar arasında antibiyotikler (özellikle  $\beta$ -laktamlar), antikonvülsanlar (difenilhidantoinler) ve antiaritmikler (kinidin ve prokainamid) bulunur.(103) İlaç ateşi bir dışlama teşhisi olmaya devam etmektedir. İlaç ateşinin diagnostik bir paterni mevcut değildir. Bazı olgularda bradikardi, döküntü ve eozinofili görülebilmektedir. İlaç başlangıcı ile ateşin başlangıcı veya şüpheli ilacın kesilmesi ve ateşin düşmesi arasındaki zamansal ilişki tanı konusunda önemli fikir verir.

Klinik ateşle karışabilen bir başka durum farklı patofizyolojiye sahip hipertermik sendromlardır. Çevresel ısı ile ilgili hastalıklar, malign hipertermi, serotonin sendromu ve nöroleptik malign sendrom (NMS), propofol infüzyon sendromu, piperazin bileşikleri, antikolinerjik sendromu, sempatomimetik kannabinoid kullanımı (örneğin, kokain, metamfetaminler, mefedron [banyo tuzları]) ve alkol, opioid veya benzodiazepin çekilme ajitasyonu çekirdek vücut sıcaklığında önemli yükselmelere neden olabilir.(101)

Çevresel ısı ile ilgili hastalıklar, ısı dağılımında yetersizlikten kaynaklanır. Hastalık spektrumu, küçük ısı krampları, ısı senkopu veya ısı bitkinliğinden potansiyel olarak

yaşamı tehdit eden sıcak çarpmasına (vücut sıcaklığı > 40 °C ve önemli SSS işlev bozukluğu ile) kadar uzanır. Özellikle yaşlı hastalar daha çok etkilenirler.

Malign hipertermi, süksinilkolin veya inhalasyon anesteziğinin uygulanmasıyla ilişkili farmakogenetik bir sendromdur. Duyarlı bireylerde, iskelet kaslarında kalsiyum homeostazını indükleyerek yoğun tonik kasılma ve kontrolsüz termojenez ile sonuçlanır. Klinik ilaç uygulanmasından sonra 30 dk içinde gelişmektedir, fakat 24 saate kadar gecikmiş malign hipertermi durumu bildirilmiştir. Tedavi şüpheli ajanın hızlıca kesilmesi, harici soğutma, iv sıvı resüsitasyonu ve dantrolenin uygulamasını içerir.

Serotonin sendromuna 5-HT<sub>1a</sub> ve 5-HT<sub>2a</sub> reseptörlerinin aşırı aktivasyonu neden olur. Genellikle selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI), trisiklik antidepresanlardan (TCA) alan ve daha sonra serotonerjik aktiviteye sahip olan, SSRI'ların veya TCA'ların CYP metabolizmasına etki eden herhangi bir ilaca bağlı görülebilir. Klinik olarak, değişen mental durum, otonom hiperaktivite ve nöromusküler anormalliklerden oluşan bir üçlü olarak kendini gösterir. Soruna neden olan ajanın kesilmesi, semptomlarda hızlı bir şekilde azalma sağlar. Benzodiazepinler ve serotonin antagonisti siproheptadin, ciddi vakaları tedavi etmek için kullanılır.

Nöroleptik malign sendrom (NMS) nöroleptik ajanların antidopaminerjik aktivitesi ile tetiklenir. NMS'nin klinik prezentasyonu serotonin sendromuna benzerdir. NMS, tedavi sırasında herhangi bir zamanda gelişebilirken, serotonin sendromu genellikle tetikleyici ilaca maruz kaldıktan dakikalar veya saatler içinde gelişir. Tedavide nöroleptik ilaçlar kesilir ve santral bir dopamin agonisti olan bromokriptin kullanılır.(104)

#### 2.2.10.1. Deksmetomidin İlişkili Ateş

İlaç ateşi genellikle bir dışlama tanısı olarak kabul edilir. Özellikle birden fazla patolojinin ve birden fazla ilaç tedavisinin genellikle aynı anda mevcut olduğu kritik hastalarda yaygındır. Bu nedenle, tüm enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan hipertermi nedenleri, multimodal bir teşhis çalışması ile dışlanması gerekmektedir.(105) Hastalar deksmedetomidine bağlı hipertermi gelişen dönemde

yeterli antibiyotik tedavisi alıyor olsalar dahi tanı öncesi ayrıntılı mikrobiyolojik testler yapılmalıdır. Bağımsız birçok olgu bildiriminde ateşe eşlik eden başka enfeksiyonların olması ve bu enfeksiyonları dışlamak için büyük çabalar ve kaynaklar harcanması, ilaç ateşini erken ve doğru teşhis etmek için günlük pratikteki zorluklardır.(106–108)

Mekanik ventilatör desteği alan YBÜ hastalarını içeren iki çok merkezli, randomize çalışmada, deksmedetomidin grubunda 247 hastanın 16'sında (%6,5) (MIDEX çalışması) ve 246 hastanın 13'ünde (%5,3) (PRODEX denemesi) yan etki olarak hipertermi bildirilmiştir.(60)

Major kardiyak cerrahi sonrası deksmedetomidin ile sedasyon sağlanan 200 hastaya Dünya Sağlık Örgütü-Uppsala İzleme Merkezi (WHO-UMC) Nedensellik Değerlendirmesi ve Naranjo ADR (Advers drug reaction) nedensellik değerlendirme gibi iki farklı nedensellik ölçeği kullanılmıştır. Uygun deksmedetomidin-hipertermi ilişkisine sahip 9 vaka (%4,5) olgu serisi olarak sunulmuştur. 1,0 (0,8-1,3) µg / kg / saat deksmedetomidin idame infüzyonununun ortalama 6 (4-10) saat sonra hipertermi saptandığı bildirilmektedir. 1,0 (0,8–1,0) µg / kg / saatlik deksmedetomidin dozunda ortalama 11 (6–29) saat sonra 39,0 °C (38,8–39,2 °C) maksimum vücut ısısına ulaşıldığı, infüzyonun kesilmesinden sonra vücut ısısının sırasıyla 3 (1–8) ve 4 (3–9) saat sonra ≤ 38,5 °C ve ≤ 38,0 °C seviyeye düştüğü gözlenmiştir. Vakalar arasında standart bir ateş trasesi ve ateş mekanizması belirlenememiştir.(5)

Thompson ve ark. tarafından deksmedetomidine bağlı ilaç ateşi görülen pediatrik obez olgu bildirilmiştir.(4) Deksmetomidin ile oluşan hiperterminin Dünya Sağlık Örgütü obezite sınıflandırmasına göre sınıf II obezite ve kardiyak cerrahi ile yakın ilişkisi olduğu düşünülmektedir.(3)

Deksmetomidin ile ilişkili hipertermi mekanizmasının hem merkezi hem de periferik faktörlerle birlikte olduğu düşünülmektedir. Deksmetomidin sıcaklığın hipotalamik düzenlenmesine aracılık eden nörotransmitterler olan noradrenalin, serotonin ve dopaminin ekspresyonunu değiştirebildiği varsayılmaktadır.(3) Hayvan çalışmalarında α<sub>2</sub> agonistleri, termojenik premotor nöronların aktivasyonunu bloke ederek vücut ısısını düşürür. Alfa-2 reseptör nakavt fare modellerinde bu sıcaklık düşüşü gözlenmez; yani alfa reseptörlerdeki polimorfizmlerin reseptör aktivitesinde

azalma nedeniyle hipertermik reaksiyonlara yatkınlık oluşturması mümkündür.(109) Başka bir alternatif mekanizma ise deksmedetomidinin NMS gibi dopaminerjik blokaj yoluyla hipertermiyi indükleyebilmesidir.(3) Çeşitli hayvan modelleriyle farklı çevresel koşullar altında,  $\alpha$  agonistleriyle hipertermi yaratılmış olması nörotransmitter metabolizmasındaki değişikliklere henüz keşfedilmemiş başka dış faktörlerin aracılık ettiğini düşündürmektedir.(109) Czepiel ve ark. tarafından COVID-19 ile yüksek doz  $\alpha$  agonistleri arasındaki etkileşimin hiperpireksiye yatkınlık oluşturduğunu düşündüren üç olgu bildirilmiştir.(107)

Deksmedetomidin ile ilişkili hipertermi için risk faktörleri şu anda bilinmemektedir. Deksmedetomidine ile ilişkilendirilen ateşin mekanizmasını açıklamak için ve Nöroleptik malign sendrom gibi diğer iyatrojenik hipertermilere (dehidrasyon, ajitasyon, bitkinlik, eşzamanlı antikolinergik veya antidepresan kullanımı, stres ve yetersiz beslenme gibi tetikleyicilerle) benzer olup olmadıklarını belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu açıktır.

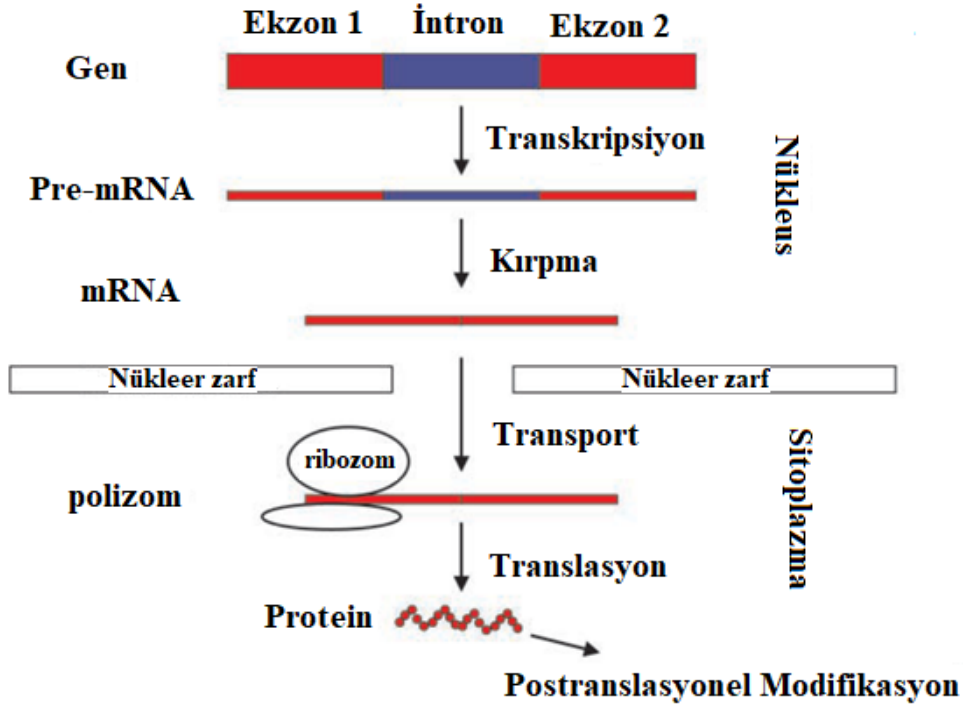
### **2.3. Proteomiks**

#### **2.3.1. Tanım**

1944 ve 1952 'te Avery-McLeod ve Hershey-Chase deneyleri yapılıp DNA'nın kalıtsal bilgiyi taşıyan makromolekül olduğu kanıtlanana kadar proteinler genetik materyal olarak daha çok ilgi çekiyordu.(110) Proteinlerin hücrede daha fazla bulunması, kuru ağırlığın %50 sinin proteinlerden oluşması, proteinlerin daha karmaşık 4 katlı modellerden oluşması ve çeşitlilik oluşturmaları bu ilgiyi arttırıyordu.(111) Sonraki dönemlerde kalıtsal bilgi kaynağının genom olduğu, fizyolojik ve fonksiyonel başlangıç noktasını oluşturduğunun keşfedilmesi ilgiyi genomikse çevirmiş, bu amaçla 1990 yılında başlatılan ve tüm insan genomunun DNA sekanslarını belirlemeye yönelik uluslararası araştırma İnsan Genom Projesi insanlık tarihinin en büyük keşiflerinden biri olmuştur.(112)

Proteomiks ve proteom terimleri Marc Wilkins ve ark. tarafından 1990'larda ortaya atılmıştır. Bu kelimeler organizmadaki tüm genlerin kolleksiyonlarını ifade eden genomiks ve genom kelimelerinden esinlenerek türetilmiştir. Proteomiks genel olarak; RNA-protein ilişkisini açıklamaya çalışan, proteinlerin ifade bulmaları sırasındaki post-transkripsiyonal modifikasyon ve translasyon sırasında oluşan

değişiklikler ile ilgilenen bir bilim dalıdır.(113)(Şekil 4) Proteomiks, zamandan zamana hücreden hücreye ve dış uyaranlara yanıt olarak farklılık gösteren proteinlerin ekspresyonu, yapısı, fonksiyonları, etkileşimleri ve modifikasyonları dahil olmak üzere proteomun karakterizasyonudur.(114)



Şekil 4. Post translasyonel modifikasyon basamakları

### 2.3.2. Proteomiks analizinin basamakları

Tüm proteomik deneyler, şu deneysel adımları içerir; (a) Ekstraksiyon, solübilizasyon, ön-fraksiyonlama, DNA'nın uzaklaştırılması, yaygın bulunan proteinlerin uzaklaştırılması gibi teknikleri içeren örnek hazırlığı ve ayırıştırma (b) Miktar tayini (kuantifikasyon), protein ve/veya peptitlerin tanımlanması (identifikasyonu) ve elektroforeze dayalı tekniklerin kullanımı (c) Biyoinformatik veri tabanları ile analiz. Çoğu deney bu sırayla gerçekleşir fakat bazı yöntemler farklı bir sırada ilerleyebilir.

Protein ayırıştırma, miktar tayini ve kimliklendirmesinde kullanılan metotlar aşağıda listelenmiştir;(115,116)

## **I. Ayrıştırma (Seperasyon)**

1. İzoelektrik fokuslama
2. 1D jel elektroforezi [SDS- PAGE (sodyum sülfat poliakrilamid jel elektroforezi)]
3. 2D (iki boyutlu) jel elektroforezi
4. Likit kromatografi (LC/ LC- Tandem sıvı kromatografisi)
5. Mass spektrometre [FASP (Filter-aided sample preparation) gibi]

## **II. Miktar Tayini (Kuantifikasyon)**

1. 2-DİGE (2-Dimensional in gel electroforesis)
2. İzotop etiketleme (Isotope Labelling) MS<sup>2</sup>, MS<sup>1</sup>
3. SRM/MRM (selected reaction monitoring)
4. Etiketsiz Yöntemler (Label free) EmPAI, Replicate, Average ,TIC

## **III. Kimliklendirme (İdentifikasyon)**

1. Peptide mass finger print (PMF)
2. Tandem mass spectrometri (MS/MS)
3. Protein sekanslama
4. Antibody recognition

Proteom analizi için ilk adım örnek hazırlığıdır. Numunenin hazırlanması, proteomik araştırma deneylerinin sonuçlarını etkileyen en temel adımdır. Hücre ve dokular farklı kütle, yük, izoelektrik nokta ve çözünürlükte proteinlere sahiptir, ayrıca karmaşık biyolojik materyallerde bol miktarlarda bulunan proteinlerin uzaklaştırılması ve daha az sayıdaki proteinlere odaklanmak gerekmektedir; bu yüzden örnek karmaşıklığının azaltılması gerekmektedir.(117) Örneğin sinir hücrelerinde yüksek oranda bulunan lipid nedeniyle proteinler aseton ve trikloroasetik asit ile seçici çöktelmeye uğratılıp uzaklaştırılırlar.(116)

Proteom analizinde ikinci adım protein ayrıştırma adıdır. Fraksiyonlama ya da separasyon metotları kullanılabilir. Numuneden kontamine edici materyali çıkarmak ve ilgili proteinleri daha iyi analiz etmek amacıyla proteomun parçalanması tavsiye edilir. Protein fraksiyonlaması, proteinlerin bir alt kümesini tüm proteomdan izole edilmesidir. Protein ayrıştırılması, ilgilenilen proteinlerin ayrılması ve daha ileri analizler için zenginleştirilmesi olarak düşünülebilir.(116)

Kompleks protein karışımlarını belli proteinlere ya da protein alt gruplarına ayrılarak basitleştirilir, sonrasında örnekler arasında karşılaştırma yapılarak protein düzeylerindeki farklılıklar belirlenir. Proteinlerin ayrımı araştırmacıya analizi için spesifik proteinleri hedeflemesini sağlar.

Quantifikasyon ve kimliklendirme yöntemlerinin her biri güçlü ve eksik yönler taşır bu yüzden hedeflere en uygun yöntemler seçilirler.

#### 2.3.2.1. Filtre destekli numune hazırlama (FASP)

FASP, kütle spektrometri yöntemiyle proteom analizi öncesi numunenin yüksek miktarda sodyum dodesil sülfat veya diğer deterjanları içeren lizatlarla işlenmesine izin veren bir tekniktir. Karmaşık protein karışımları, konsantre üre içeren özel tamponlar kullanılarak kimyasal olarak modifiye edilebilir ve sindirilebilir. FASP ultrafiltrasyon ünitelerinde, proteinlerin kimyasal modifikasyonu ve sindirimi için "reaktör" görevi görür. FASP, proteindeki fosforilasyon ve N-glikosilasyon alanlarının tanımlanması ve haritalanmasında kullanılır.(118)

#### 2.3.2.2. Mass spektrometri (Kütle spektrometri)

Elektromagnetik ışımının farklı dalga boylarında verdiği etkileşimlerle ilgilenen alana 'Spektroskopi' denir. Kütle spektrometreleri manyetik veya elektriksel bir alanda hareket eden yüklü partikülleri kütle/yük ( $m/z$ ) oranlarına göre diğer yüklü partiküllerden ayırt ederek ölçme esasına göre çalışan cihazlardır. (Tablo 3)



**Tablo 3. Kütle spektrometresi cihazının ana parçaları**

İyonlaştırıcı	<b>MALDI</b> (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization; Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon-İyonizasyonu)
	<b>ESI</b> (Electro-Spray Ionization; Elektro-Sprey İyonizasyonu, İyon Sprey, Nano Sprey, Sonik Sprey)
Kütle analizörü	<b>TOF</b> (Time of Flight; Uçuş Zamanlı Analizör)
	<b>Ion Trap</b> (İyon Tuzağı)
	<b>Quadrapole</b> (Kuadrapol; Dörtlü Kutup)
Detektör	
Veri	

Elektromanyetik ışımının bir fonksiyonu olarak ölçülen sinyallerin yani absorpsiyonların toplamına spektrum denir. Dalgaboyunun (frekansın ya da enerjinin) bir fonksiyonu olan cevap alanı yani sinyaller toplamı bir spektrum oluşturur. Kütle spektrumuna, iyon kaynağı tarafından üretilen farklı  $m/z$  oranlarındaki iyon bolluğuna bağlı olarak oluşturulan ‘kimyasal parmakizi’ denilebilir.

MS cihazının çalışma prensibi;

- 1) Örneklerden iyonların elde edilmesi,
- 2) Farklı kütlelerdeki iyonların birbirinden ayrılması,
- 3) Kütle spektrumu şeklinde verilerin biriktirilmesi.

Özetle; sıvı haldeki numune iyonlaştırıcıdan iyon buharı şeklinde çıkar, kütle analizöründe külesine göre filtre edildikten sonra dedektöre iletilir ve spektrum oluşturulur.

Bileşik analizlerinin kütle spektrometresindeki ilk adımı, gaz fazındaki iyonların oluşturulmasıdır. Numune giriş sisteminde katı ve sıvıları buharlaştırmak için bir ünite mevcuttur. İyonizasyon işlemi ile moleküller uyarılarak iyonize hale dönüştürülür. Girişte oluşan moleküler iyonlar, genellikle fragmanlarına ayrılırlar. Pozitif veya negatif iyonlar (çoğunlukla pozitif iyonlar) kütle analizörüne doğru hızlandırılırlar.

ESI, protein ve peptit karışımlarını iyonlaştırmak için sıkça kullanılan bir iyonlaştırma sistemidir. Kütle spektrometresi ile atmosferik basınç arasında doğrudan bir ara yüzey sağlar. Bu yöntem HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi), sıvı kromatografisi (LC), kapiler elektroforez gibi ayırma teknikleri ile kolaylıkla birleştirilebilir. Fakat ESI daha zengin bir MS / MS spektrumu için çok daha çeşitli iyonlar sağlar.(119) Genel olarak aminler, peptidler ve proteinler gibi polar bileşikler ESI tekniği, steroidler gibi apolar bileşikler ise APCI tekniği ile analiz edilir .

### 2.3.2.3. Kütle analizatörü

Kütle analizörünün işlevi, aynı fotonların dalga boylarına göre ayrılmasına benzer şekilde, yüklü molekülleri kütle/yük oranlarına göre ayırmaktır. Kütle spektrometreleri, kütle analizörünün yapısına bağlı olarak sınıflara ayrılabilirler.

Yüklü moleküller kararlı değildir ve diğer moleküllerle veya bir yüzey ile temas ettikleri zaman fragmanlarına parçalanıp yüklerini kaybedebilirler. Oluşan her bir iyon spesifik moleküler kütle ve yüke sahiptir. Bu değerlerin kütle/yük şeklinde absorbansa karşı grafiğe alındığı bir spektrum ile bileşikler tanımlanmaktadır.

Her bir iyonun absorbansı dedektöre ulaşan miktarı ile doğru orantılıdır ve her bileşiğin spektrumu kendine özeldir. Bilinmeyen bir örneğin analizi sonucu elde edilen spektrum, referans spektrumu ile karşılaştırılarak tanımlanma yapılmaya çalışılır (119)

### 2.3.2.4. Quadropole time of flight (Q-TOF)

TOF analizörü birincil olarak, elektrik alandaki hızlarına göre uçuş tüpünde ayrılmış olan iyonları ayırır. Plazma veya lazer sayesinde ya da ihtiyaç duyulan potansiyelin odaklama lenslerine uygulanmasıyla, iyonlar kaynaktan yığınlar halinde çıkar. Bu iyonlar daha sonra farklı potansiyellerde yüklenerek uçuş tüpüne doğru hızlandırılırlar.

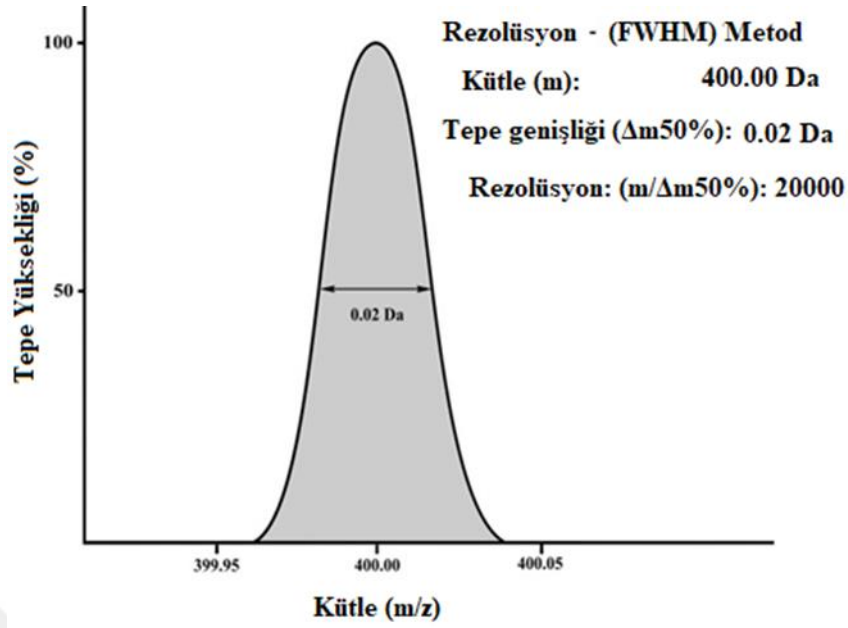
Bütün iyonlar aynı kinetik enerjiye sahip oldukça, iyon kütlelerinin bir dağılımı olarak iyon karakterizasyonu iyon hızı dağılımına bağlıdır. Hızlandırma alanından ayrılıp serbest alana (uçuş tüpüne) giren iyonlar, burada hızlarına göre ayrıldıktan sonra da dedektöre ulaşırlar.(119)

Yüklü moleküller yüksek bir elektrik alan ile hızlandırılarak, tüm kütlelerin aynı ilk enerjiye sahip olması sağlanır. Bu iyonlar daha sonra uçuş tüpü denilen yaklaşık 1-1,5 metre uzunluğundaki bir tüp boyunca uçarlar. Hepsi aynı ilk enerjiye sahip olmasına rağmen hafif olan moleküller daha hızlı; ağır olan moleküller daha yavaş hareket ederler. Dedektöre ulaşma zamanlarına göre de kütleler tespit edilir. Böylece kütle analizi yapılmış olur. TOF analizörü, MALDI veya ESI iyonlaştırıcıları ile birleştirilerek de kullanılır.

### 2.3.2.5. Mass spektrometride yüksek çözünürlük

Kütle spektrometresi ile ölçülen kütle, bileşikteki her atomun ortalama atomik kütleleri kullanılarak hesaplanan ortalama kütle ya da elementlerin doğada en çok bulunan izotopunun monoizotopik kütleleri ile hesaplanan gerçek kütle ile karşılaştırılabilir. Kütle spektrometresi ile hesaplanan kütle, analizörün çözünürlüğüne bağlıdır. Cihaz, izotopları birbirinden ayırmada iyi değilse, izotop kümesindeki birden çok pik birbirine kolayca karışabilir. Ayrıca yüksek rezolüsyon, yüksek kesinliğe sahip olan dar alanlı piklere öncülük eder. Rezolüsyonun optimum olduğu koşullarda, yakın değerlere sahip olan pikler bile farklı tepe noktalarına sahip olduğu için analizi kolaylaştırır.

Rezolüsyon, bir analizörün farklı pik sinyallerini başka bir deyişle  $m/z$  farklarını ayırt etme kabiliyetidir. Kütle doğruluğu yüksek derecede analizörün rezolüsyon kararlılığına bağlıdır. Düşük rezolüsyonlu bir cihaz yüksek doğruluğa ulaşamaz. Analiz edilen örneğin kütlelerinin hassas bir şekilde tayin edilmesi için piklerin merkezinin saptanması gerekir.(119) Yüksek çözünürlüklü kütle analiz cihazının performansını ve çözünürlüğünü belirlemek için, kütlelerin, tepe yüksekliğinin %50'sindeki genişliğe bölüdüğü 'full width at half maximum (FWHM)' yöntemi kullanılabilir.  $FWHM > 10.000$  olduğunda yüksek çözünürlüklü kütle analiz yapabildiği kabul edilmektedir.(Şekil 5)(27,120) Bu cihazların içeriğinde uçuş zamanı (time of flight/ TOF), fourier dönüşümü iyon siklotron rezonansı (fourier transform ion cyclotron resonance/ FT-ICR) ve yörünge tuzağı (orbitrap/OT) kütle analizörleri bulunur.



Şekil 5. Yüksek çözünürlük hesaplanması

Eğer iki pik %50 yükseklikte çakışyorsa, tepe %100'dür. Bu nedenle rezolüsyonun hesaplanan R değerinden büyük olması gerekir. Buradaki önemli nokta, ayrılmış pikleri analiz etmek için gereken rezolüsyon gücü, R'den direk olarak bulunamaz. Düşük ya da yüksek rezolüsyon genellikle analizörün gücünü tanımlamak için kullanılır. Yine de belli bir tanım aralığı yoktur; çünkü her cihaz kendine has prensiplere sahiptir. Tepeler arasındaki uzaklık ne kadar fazlaysa kütle çözünürlüğü o kadar iyidir. Kütle doğruluğu ise, gerçek kütle ve ölçülen kütle arasındaki farktır.(119)

Tepeleri arası yakın olan iki pik, pik yoğunluğu 10% iken ICR'da (ion cyclotron resonance; iyon hızlandırıcı rezonans), %50 iken kuadropol, QToF ya da iyon tuzağında ayrıştırılabilir. Eğer kütle farkı küçük ise, rezolüsyon gücü  $R=m/\Delta m$  şeklinde ifade edilir. Bu şekilde artan rezolüsyon gücü, kütleler arası küçük farklılıkları ayırt etme yeteneğini de artırır.

### 2.3.2.6. Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS)

Sıvı kromatografi temeline dayanan bir yöntem ve cihazdır. Kullanılan kütle dedektörünün sağladığı çalışma kolaylığı, keskinlik gibi avantajları kullanım için tercih sebebidir. LC-MS/MS cihazı HPLC cihazının bir alt türü sayılmaktadır ve çalışma metodlarında HPLC-UV, HPLC-FLD, HPLC-MS şeklinde bahsedilmektedir. Kütle dedektörünün iyileştirilmiş özellikleri sayesinde farklı bir yöntem veya cihaz olarak anılmaktadır. LC-MS/MS ile çok düşük konsantrasyonlarda bile maddenin miktar tayininin yapılabilmesi ve sonuçların doğrulanmasına gerek duyulmamaktadır.

a) *Klinik Uygulamalarda kullanımı*;(121) Yeni doğan taramaları, yağ asidi oksidasyon defektleri, organik asidemiler, amino asit metabolizması bozuklukları, üre siklusu enzim defektleri gibi birçok metabolik hastalığa aynı anda ve çok kısa sürede tanı koymak mümkündür. Lizozomal depo hastalıkları; (Mukopolisakkaridozlar (MPS), steroid hormonlar; E1, E2, progesteron, testesteron, kortizol (serum, idrar ve tükürük), aldosteron, androstenedion, kortizol, kortizon, 11-deoksikortizol, 21-deoksikortizol, 17-OHP, DHEA, DHEAS), D Vitamini; D2, D3, 3-epi izomerleri, vitaminler, insülin, T3, hemoglobin analizleri, karbohidratlar, karmaşık matrislerde bulunan eser seviyedeki analitlerin hassas miktar tayini, doku, kan gibi biyolojik örneklerde ilaç ve metabolitlerinin ölçümü, oksidatif stres biyobelirteçlerinin kantitatif analizi (SOD, katalaz, MDA), tiyol biyobelirteçlerin ölçümü (homosistein), 8-OHdG ve ilişkili DNA biyobelirteçleri ölçümü, DNA baz hasarı ölçümü (8OHdG – 8-hidroksi-2‘deoksiguanozin).

b) *Biyoteknoloji*: Protein, peptit ve oligonükleotidler

c) *Adli Tıp, Toksikoloji*: Uyuşturucu ilaçlar, narkotikler, zehirler

d) *Farmasötik Uygulamalar*: Farmakokinetik, İlaç metabolizması,

e) *İlaç geliştirme, İlaç seviyeleri*

f) *Çevre, gıda analizleri*: Gıda numunelerinde pestisit ve metabolitlerinin, hormon ve metabolitlerinin, aflatoksinmikotoksin analizleri vb., su analizleri (8, 9, 13).

Geniş analitik ölçüm aralığına sahiptir, aynı anda birçok analit ölçülebilmektedir. Fakat cihaz bakımı ve maliyeti yüksektir. Deneyimli personel gerekliliği, analizin

kompleksliği, referans metot yokluğu, otomasyon uyumsuzluğu gibi zorlukları mevcuttur.

### 2.3.2.7. **Biyoinformatik**

Biyoinformatik, biyolojik verileri analiz etmek ve yorumlamak için biyoloji, bilgisayar bilimi, bilgi mühendisliği, matematik ve istatistik bilim dallarını birleştiren bir disiplinler arası bilim alanıdır. Normal hücresele aktivitelere farklı hastalık durumlarında nasıl değiştiğini incelemek için biyolojik veriler, bu aktivitelere geniş bir bakış açısı oluşturmak üzere biraraya getirilerek analiz edilmelidirler. Biyoinformatik alanı çeşitli veri türlerinin analizini ve yorumlanmasını içerir. Aynı zamanda nükleotid ve amino asit sekansları, protein ürünleri, protein yapıları ve etkileşimlerini de içerir. (122)

Biyoinformatiğin getirmiş olduğu yaklaşımlar;

-Çeşitli bilgilere etkin erişim, yönetim ve kullanım sağlayan bilgisayar programlarının geliştirilmesi ve uygulanması,

-Büyük veri kümelerinin arasındaki ilişkileri değerlendiren yeni algoritmaların ve istatistiksel yöntemlerin geliştirilmesi. Örneğin, bir genin bir sekans içindeki yerini belirleme, protein yapısını ve / veya fonksiyonunu tahmin etme ve protein dizisi ile ilgili sekansların yapısına göre gruplama yöntemleri,

-Biyoinformatiğin temel amacı biyolojik süreçlerin anlaşılmasını arttırmaktır. Ancak elde ettiği bir analiz sonucunu tüm canlı yapılarına uygulayamaz. Bu durumdan dolayı, her biyolojik veriyi anlamılaştırılabilmesi adına kendi içinde bir takım yeni algoritma ve modellemeler oluşturmak zorundadır.

Genom dizilimede dizi hizalaması, hastalıkla ilişkili aday gen bulma, genomlar arası karşılaştırma, ilaç tasarımı, ilaç keşfi, protein yapı eşleştirmesi, protein yapı tahmini, gen ekspresyonunun tahmini ve protein-protein etkileşimleri, genom çapında ilişki çalışmaları, evrimin modellenmesi biyoinformatiğin çalışma kapsamındadır.

Biyoinformatik veritabanları, biyolojik çalışmalarda elde edilen yüksek miktarda veriyi ve bunların depolanmasını işlemek için oluşturulmuştur. DNA ve

protein dizilerinin haritalanması ve analizi, DNA ve protein dizilerinin karşılaştırılması 3B yapı tahmini, protein-protein etkileşiminin hızlı analizi için çeşitli biyoinformatik araçlar geliştirilmiştir. Veri tabanları üzerinden kimliği belirlenmiş olan proteinler değerlendirilerek farklı tedavi dozlarına yanıt, tedavi edilen ve edilmeyen bireylerdeki protein haritaları veya farklı hastalıkları taşıyan vakalar ile kontrol grupları arasında fark doğrudan ve en güvenilir şekilde ortaya koyulmaktadır.

En sık kullanılan biyoinformatik veritabanları;

- Biyolojik dizi analizinde kullanılan veri tabanları: Genbank, UniProt
- Yapı analizinde kullanılan veri tabanları: Protein Veri Bankası (PDB)
- Protein Aileleri ve Motif Bulmada kullanılan veri tabanları: InterPro, Pfam
- Yeni Nesil Sekanslama için kullanılan veri tabanları: Sekans Okuma Arşivi
- Ağ Analizinde kullanılan veri tabanları: Metabolik Yol Veritabanları (KEGG, BioCyc)
- Sentetik genetik devrelerin tasarımında kullanılan veri tabanları: GenoCAD

Biyoinformatik yaklaşımın genlerin multimodal incelenmesine olanak sağlar. Multimodal yaklaşımlar, bir genin ekspresyonu ve bunun proteinsel karşılığını ve sonuçların global veri bankalarında modellenmesini içerir. Bu yaklaşım özelden genele olabileceği gibi, genelden yani global veriden spesifik bir hasta verisine doğru yapılabilmektedir. Bir diğer yaklaşım olan genetik ağ analizleri ise, hastalığın analizlenmesinde büyük önem taşımaktadır. İyi bir analiz için mutlak büyük veri bankalarında veri madenciliği yapılarak olası tüm alt modellemeler hesaplamaya dahil edilmelidir. Ağ Varyantları, Gene Ontology, String, Reactome, miRTargetLink Human, Target Scan Human Predicts Biological Targets, Gene Set Enrichment Analyze (GSEA) analiz programlarına örnek olarak olarak sıralanabilir.

*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)* genler arası etkileşim ve sinyal yollarının anlaşılmasında kullanılan bir veri bankasıdır. KEGG, hücre, organizma ve ekosistem gibi biyolojik sistemin üst düzey fonksiyonlarını ve faydalarını, moleküler düzeydeki bilgilerden, özellikle genom dizilimi ve diğer büyük ölçekli moleküler veri kümeleri ile açıklamak için kullanılan bir veritabanı kaynağıdır.

Etkileşim, reaksiyon ve ilişki ağlarının moleküler bağlantı şemaları (sistem bilgileri) ile entegre olan genlerin ve proteinlerin moleküler yapı taşlarından (genomik bilgi) ve kimyasal maddelerden (kimyasal bilgi) oluşan biyolojik sistemin bilgisayar diline dönüştürülmüş veri bankası olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bu analiz programı, biyolojik sistemi bozan hastalık ve ilaç bilgileri içermektedir.(123)

KEGG veri tabanı içerisinde yolak analizleri ve bu yolaklar arası etkileşimlerin analiz edilebildiği bir arayüz sunulmaktadır. KEGG analizi ile farklı organizmalar arasında genlerin, genom yapılarının korunmasına ve varyasyonuna odaklanarak geliştirilmiştir. KEGG yolak haritalarının, BRITe hiyerarşilerinin ve KEGG modüllerinin referans veri setlerini fonksiyonel ortologlar kavramı ile bir araya getirilerek geliştirilmiştir. Böylece KEGG yolak analizi ve diğer prosedürler herhangi bir hücrel organizmaya uyarlanabilmektedir. KEGG ağı, KEGG tarafından sadece gen varyantlarının değil, virüslerin ve diğer faktörlerin neden olduğu ağ varyantları açısından hastalıklar ve ilaçlar hakkında analiz yapabilmek olanağı sağlamaktadır.

*STRING*, bilinen ve tahmin edilen protein-protein etkileşimlerinin incelendiği bir veritabanıdır. Bu veri tabanı etkileşimler arasında doğrudan (fiziksel) ve dolaylı (fonksiyonel) ilişkiler; hesaplama tahmininden, organizmalar arasındaki bilgi transferinden ve diğer veritabanlarından toplanan etkileşimlerden kaynak olarak analizlerini gerçekleştirmektedir.

*REACTOME*, açık kaynaklı, açık erişimli ve uluslararası hakemli bir veritabanıdır. Moleküler ve klinik araştırmalar için; genom analiz verisi, sistem biyolojisi, moleküler yolak verileri gibi birden fazla ve farklı verinin görselleştirilmesi, yorumlanması ve analizi için *in silico* biyoinformatik araçlarını kullanmaktadır.

*REACTOME*, sinyal ve metabolik moleküllerin arasındaki ilişkiyi nicel olarak analizleyen ve biyolojik yollara, metabolik süreçlere, döngülere etkisini modelleyerek hesaplayan bir veri tabanıdır. Reactome veri modelinin ana birimi moleküllerin kimyasal tepkisidir. Reaksiyonlara katılan yapıların (nükleik asitler, proteinler, kompleks moleküller, aşılarda, anti-kanser terapötikleri ve küçük moleküller) arasında bir biyolojik etkileşim ağı oluşturur ve bunları yolaklar halinde gruplandırılır. Reactome'daki biyolojik yolların örnekleri arasında klasik ara



metabolizma, sinyalizasyon, transkripsiyonel düzenleme, apoptoz ve hastalık yapısı bulunmaktadır.

*MSigDB Gen Setleri veri tabanı*, GSEA'nın kullanımını kolaylaştırmak için, Broad Institute'tan ücretsiz olarak indirebilen bir kaynaktır.

*Normalleştirilmiş zenginleştirme puanı (NES)*, gen seti zenginleştirme (GSEA) sonuçlarını incelemek için ilk istatistiktir. GSEA, zenginleştirme puanını normalleştirerek, gen seti büyüklüğündeki ve gen setleri ile ekspresyon veri seti arasındaki korelasyonlardaki farklılıkları açıklar. Normalleştirilmiş zenginleştirme puanları (NES), gen kümeleri arasında analiz sonuçlarını karşılaştırmak için kullanılır.(124)

### **2.3.3. Proteomiks çalışmalarının avantaj ve dezavantajları**

Proteinler genomiksten çok daha karmaşıktır çünkü fosforilasyon, glikozilasyon, asetilasyon, ubiquitinasyon, farnesilasyon, sülfasyon ve glikofosfatidilinositol gibi çeşitli moleküllere bağlanarak post translasyonel modifikasyona uğrarlar.

Post-transkripsiyonel modifikasyon olan mRNA'nın alternatif kırılması, translasyon başlangıç ve bitiş yerlerinde değişkenlikler veya çerçeve kayması yoluyla tek bir gen bölgesinden birden çok farklı proteini kodlayabilir.

Proteinler değişen koşullara daha esnek yanıt verirler; bu yanıtlar hücre içi lokalizasyonlarını değiştirmek, bölünmek, daha kararlı hale gelmek, moleküllere bağlanma veya ayrılma özelliklerinde değişiklikler yapmak olabilir. Aynı zamanda, tek bir proteinin birden fazla işlemden yer alabilmesi veya benzer işlevlerin farklı proteinler tarafından gerçekleştirilebilmesi açısından büyük bir plastisite gösterirler.(125)

Özetle proteinlerde görülen tüm modifikasyonların bilgisini protein kodlayan bölgelerdeki genom tek başına veremez. Normal fizyolojide olan, ilaç maruziyeti olan ya da patolojik dokularda hücre içinde gerçekleşen modifikasyonlar farklılık gösterir. Bu nedenlerle, genomik çalışmalar her zaman nihai protein ekspresyonu hakkında doğru bilgiler sağlayamaz.

Proteomik hastalıkların erken teşhisi, prognozu ve hastalık gelişiminin izlenmesi için çok önemlidir. Ayrıca hedef moleküller olarak ilaç geliştirmede hayati bir role

sahiptir. Proteom çalışmaları, genomik çalışmalardan farklı yollarla hücrenin yapısal ve fonksiyonel bilgileri yanı sıra hücrenin çeşitli stres türlerine, hastalıkların patofizyolojisini ve ilaçlara karşı yanıt mekanizmasını ortaya koyabilmekte ve farklı bir perspektif sunmaktadır.(117) ).

En fazla 3.000-4.000 ayrı proteinin ayrılmasına izin veren 2D jellerde sınırlı çözünürlük sağlaması, sitokinler ve reseptörleri, sinyal transdüksiyon proteinleri veya hücre siklus düzenleyici birçok önemli molekülü tespit etmede başarısız olması, hidrofobik, temel, çok küçük veya çok büyük proteinlerin doğru tespit edilememesi gibi kısıtlılıklar mevcuttur.(125) Son zamanlarda bu kısıtlılıklara yönelik proteomiks teknolojileri hızla gelişmektedir.

#### **2.3.4. Anestezik ilaçlar ve proteomiks çalışmaları**

Daha güvenli sağlık hizmeti sağlayabilmek için yaygın olarak kullanılan anesteziklerin mekanizmaları ve potansiyel yan etkileri araştırmacılar tarafından ilgi görmektedir. Genel anestezinin öğrenme ve bellek üzerine etkisinin mekanizması araştırmak üzere propofol ve deksmedetomidin karşılaştırılmıştır. Zhank ve ark. yaptığı çalışmada hipokampusu temsilen HT22 hücre kültürü üzerinde SILAC (hücre kültüründe amino asitlerle kararlı izotop etiketleme) etiketleme tekniği, IMAC (hareketsizleştirilmiş metal afinite kromatografisi) zenginleştirme ve yüksek çözünürlüklü LC-MS/MS analizini kullanarak nicel proteom ve fosfoproteom profili araştırılmıştır. Biyoinformatik analiz sonucu, deksmedetomidin, hücre sağkalımı üzerinde propofolden daha küçük bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur.(126)

Foto-etiketleme ve 2D jel elektroforezi ile insan korteksindeki bir grup halotan bağlayıcı proteinin Pan ve ark. yaptığı çalışmada yaklaşık %70'ini kütle spektroskopisi ile tanımlanmıştır ve saptanabilir proteinlerin yaklaşık %24'ünün spesifik olarak halotanı bağladığı gözlenmiştir.(127) Fonksiyonel sınıflandırması karbonhidrat metabolizması ve protein katlanması üzerinde etkiler gösterdiği, ağ analizinde ise hücre büyümesi ve çoğalması, hücre döngüsü, hücre ölümü ve hücre-hücre sinyalizasyonunda yer alan proteinlerin ön plana çıktığı gözlenmiştir.

Hipokampus dokusu kullanılan başka bir proteomiks çalışmasında Deksmetomidinin ratlarda status epileptikus modeli üzerindeki antikonvülsif ve nöroprotektif etkisi araştırılmıştır. Deksmetomidin, hasarlı nöromodülatör

metabolizmayı ve nörotransmitterleri restore ettiği, enerjideki bozulmayı azalttığı, oksidatif stresi iyileştirdiği ve nükleik asit metabolizmasını ve amino asidi hafiflettiği tespit edilmiştir.(128)

Propofol, ameliyat sırasında anestezi indüksiyonu ve idamesi için yaygın olarak kullanılan güvenli ve etkili bir intravenöz anestezik olmasına rağmen propofolün anestezik etkisinin mekanizması net olarak bilinmemektedir. Propofol, talamus, hipokampus ve frontal loblarda keratin 18, gelsolin, tubulin 2c zinciri, makrofaqapama proteini, aktin ve apolipoprotein E gibi 16 proteini fosforile ederek hızlı başlangıç ve post propofol bilişsel bozulmaya neden olabilir.(129) Propofolün post operatif kognitif disfonksiyonun hipokampal protein seviyelerindeki farklılıklara sebep olabileceği teorisinin literatürde sıklıkla test edildiği görülmüştür. Tandem Mass Tags teknolojisi ile birleştirilmiş sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometrisi ile test edilen bir çalışmada kompleman C3'ün ratlarda nöroplastisiye dair ipuçları verdiği ve POCD için potansiyel biyobelirteç ve terapötik hedef olabileceği gösterilmiştir.(130) Hipokampusta enerji metabolizmasında baskılanma, nöral plastisitenin bozulması, protein sentezi, kalite kontrolü ve aksonal transportun bozulması propofol anestezisinden derlenmenin erken aşamasında post operatif kognitif disfonksiyonu açıklayabilir.(131) Ancak Ma ve ark. yaptığı çalışmada rat hipokampusu üzerinde mass spektrometre ve RNA sekanslama ile yüksek doz propofol anestezinin, hücre iskeleti stabilitesini düşük doz propofole göre daha etkili şekilde koruyabildiğini ve post operatif kognitif disfonksiyonun daha iyi korunabileceğini hücresel düzeyde kanıtlamışlardır.(132)

Takotsubo sendromu modeli sıçanlarda izofluran propofol veya ketamin +midazolam ile anestezi karşılaştırıldığı bir çalışmada izofluranın ejeksiyon fraksiyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Ratların apikal kardiyak dokularında çalışılan proteomik analizde inflamasyon, koagülasyon, endositoz ve lipid metabolizması yolaklarının up regüle olduğu fakat propofol ile karşılaştırıldığında izofluran anestezi uygulanlarda bu up regülasyonun zayıfladığı vurgulanmıştır.(133) Şüphesiz anesteziklerin etki mekanizması ile daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

## 2.4. Çalışmada Anlamlı Olarak Tespit Edilen Proteinlerin Genel Bilgileri

### 2.4.1.STIP 1 (Stress-induced-phosphoprotein 1)

HSP90AA1 ısı şok proteini (HSP) için yardımcı refakatçi görevi yapar ve HSPA8/HSC70 ve HSP90 moleküler şaperonlarının ilişkisine aracılık eder.(134)

Stres koşullarında normal şartlarda üretilen tüm proteinlerin sentezinde belirgin bir grup proteinin sentezinin arttığı görülmüş ve strese karşı oluşan ve temel deneysel modeli ısı artışı olduğu için HSP olarak adlandırılmışlardır. HSP'ler, ısı da dahil olmak üzere birçok hücre fonksiyonunu bozan etkene karşı koruma sağlayan hücre kaynaklı protein ailesidir. HSP'nin temel olarak sitoproteksiyonda (fizyolojik ve stres koşullarında), nörodejeneratif bozukluklarda, sinyal iletiminde ve kanser immünolojisinde rolleri vardır. Hücre içi yerleşimli HSP'ler, yanlış katlanmış proteinleri düzeltmek, protein agregasyonunu önlemek, proteinlerin taşınmasını ve antijen işleme ve sunumunu desteklemek ve apoptozu sınırlamak gibi koruyucu rollere sahiptir. Hücre membranına bağlı veya hücre dışı HSP'ler immün sistemi uyarır, sitokin salınımını indükler ve NK hücreleri için tanıma bölgeleri sağlar (135,136) 90 $\alpha$ 'nın tümörögenез ile olan ilişkisi iyi tanımlanmıştır. Epidermal büyüme faktörü (EGF) reseptör sinyal iletimi ve Akt sinyal yollarıyla apoptotik yollarda rol alır ve steroid hormon reseptörlerinin düzenlenmesinde görevlidir. Özellikle androjenik hormon reseptörlerinin fonksiyonlarının ve stabiliteilerinin düzenlenmesi ve birçok tümörün gelişiminde etkisi olan vaküler büyüme endotelial faktör (VEGF) reseptörlerinin fonksiyon göstermesine katkıda bulunur. (137) Apoptozda birden fazla noktada görevi vardır ancak genel olarak anti-apoptotik bir role sahiptir. Böylece kanser hücrelerinin canlılığının devam etmesine yardımcı olur.(138) Isı artışı ve hipoksi tümöral hücrelerde HSP 90 artışına bağlı olarak tümör direncini artırır.

### 2.4.2.MTCO2 (Sitokrom c oksidaz subunite 2)

Oksidatif fosforilasyonu sağlayan mitokondriyal elektron taşıma zincirindeki son enzim olan sitokrom c oksidazın bileşenidir. Solunum zinciri, süksinat dehidrojenaz (kompleks II, CII), ubikinol-sitokrom c oksidoredüktaz (sitokrom b-c1 kompleksi, kompleks III, CIII) ve sitokrom c oksidaz (kompleks IV, CIV) olmak üzere 3 çok alt birimli kompleks içerir ve bunlar üretilen elektronları transfer etmek

için iş birliği yaparlar. Sitokrom c oksidaz, oksijenin suya indirgenmesini katalize eden solunum zincirinin bileşenidir. 1-3 arası alt birimler, enzim kompleksinin fonksiyonel çekirdeğini oluşturur. Alt birim 2, elektronları sitokrom c'den iki çekirdekli bakır A merkezi aracılığıyla katalitik alt birim 1'in bimetalik merkezine aktarır.(139) Mitokondriyal sitokrom oksidaz solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksidi ( $O_2\cdot^-$ ) detoksifiye eder. Bu reaksiyon fizyolojik şartlarda sürekli devam eden normal bir reaksiyondur, bu yol ile bol miktarda enerji üretimi (ATP) sağlanır. Ancak çoğu zaman süperoksit üretimi mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin zararlı etkilerine engel olurlar.

#### **2.4.3.PSMC6 (26S proteosome subunite)**

26S proteazom düzenleyici alt birim 10B, proteinlerin ATP'ye bağlı bozunmasında yer alan bir multiprotein kompleksi olan 26S proteazomunun bileşenidir. Bu kompleks, hücresel fonksiyonları bozabilecek yanlış katlanmış veya hasar görmüş proteinleri uzaklaştırarak ve fonksiyonları artık gerekli olmayan proteinleri uzaklaştırarak protein homeostazının korunmasında kilit rol oynar. Bu nedenle, proteazom, hücre döngüsü ilerlemesi, apoptoz veya DNA hasar onarımı dahil olmak üzere çok sayıda hücresel sürece katılır. Alzheimer, Parkinson, Amiotrofik lateral sklerosis, Huntington hastalığı, Spinocerebellar ataksi, Prion hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili bulunmuştur.(140)

#### **2.4.4.FASN (Yağ asidi sentetaz)**

Yağ asidi sentetaz, asetil-CoA, malonil-CoA ve NADPH'den uzun zincirli yağ asitlerinin oluşumunu katalize eder. Bu çok işlevli protein 7 katalitik aktiviteye ve bir asil taşıyıcı proteine sahiptir.

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3.1. Etik Kurul Onamı**

Çalışma deney hayvanlarına yönelik ulusal mevzuata (5199 Sayılı Hayvanları Koruma Kanunu, Veteriner Hekimliği Deontoloji Yönetmeliği ve diğer deney

hayvanlarına yönelik yönetmelikler) uygun olarak tasarlandı ve Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deneysel Hayvanları Yerel Etik Kurulu'na başvuru yapılarak onay alındı.

### 3.2. Proje Desteği

Araştırma masrafları Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Destek Biriminden destek alınarak karşılanmıştır.

### 3.3. Materyal

Çalışmada Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen 8-10 haftalık, yetişkin, 10 adet Wistar ırkı erkek sıçan kullanıldı. Deneyden elde edilen doku materyalleri İstanbul Medipol Üniversitesi-Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER) bünyesinde bulunan proteomiks laboratuvarında SYNAPT2-Si yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi ile birleştirilmiş ACQUITYUPLC M sınıfı cihaz (Waters) ile değerlendirildi.

### 3.4. Yöntem

Çalışmanın materyalini oluşturan 8-10 haftalık yetişkin erkek 10 adet rat, her grupta 5 adet olmak üzere 2 ayrı gruba ayrıldı.

İntraperitoneal yolla, 24 saatte, altışar saat aralıklarla toplamda 5 kez uygulanacak şekilde;

- Kontrol grubuna (Grup SF); steril %0,9 serum fizyolojik (Poliflex®, Polifarma, Türkiye),
- Deney grubuna (Grup D) 0,15 mcg/gr deksmedetomidine HCl (Precedex®, Pfizer, ABD) canlı ağırlıklarına göre doz hesaplaması yapılarak uygulandı.(141)

Literatürde deksmedetomidin ile yapılan çalışmalarda 24 veya 48 saatte çeşitli dozlarda (5-10-15-20-40-200 mcg/kg) ve doz aralıklarında (2-3-4 kez /24 saat) intraperitoneal uygulama dozları mevcuttur.(128,142,143) Çalışmaya başlanmadan önce günde 4 kez 100-150-200 mcg /kg doz a ayrı doz rejimi ile 3 farklı rat

üzerinde ön çalışma yapılmıştır. Sedasyon derinliği ve uzunluğu yaklaşık 6 saat süren, ek doz gerektirmeyen, bradikardi ve derin hipotermi görülmeyen dozun 150 mcg /kg olduğu gözlenmiştir. 24 saatte toplam 600 mcg/gr deksmedetomidin intraperitoneal yolla uygulanarak sedasyon sağlanmıştır.

Deksmedetomine kullanımında postoperatif bulantı kusma insidansı diğer anesteziyelere göre daha azdır. Fakat gastrik boşalma süresi morfin ile benzerdir. Hem bu durum aspirasyon riski oluşturacağından hem de intraperitoneal enjeksiyonun komplikasyonlarından kaçınmak için her iki grupta gıda ve su alınımı deneyden 2 saat önce kesildi.(144,145)

Ratlar uygun bir şekilde tutulduktan sonra, abdomen bölgesinin sağ veya sol alt kadrana 23-29 Gauge iğne ile 45 derecelik bir açıyla deriye girildi. Deri altında bir miktar ilerledikten sonra hafifçe itilerek, karın kaslarına geçildi. Bu işlem sırasında visseral organlara ve bezlere zarar verilmemesine dikkat edilmiştir. Peritonda içinde olup olmadığını doğrulamak için piston hafifçe geri çekildi, enjektör içine kan vs sıvı dolmadığı görüldükten sonra enjeksiyon yapıldı. Ratlara intraperitoneal olarak 2 ml'den fazla sıvı verilmemiştir.

Sedasyon takibi için intraperitoneal uygulama sonrası 10 dk beklendikten sonra righting refleksi testi yapılarak süre kaydedildi ve sedasyon derinlik skalasına (Tablo 4) göre değerlendirme yapıldı. 5-10 puan arası hafif sedasyon, 11-20 puan arası orta derinlikte sedasyon, 21-30 puan arası derin sedasyon olarak değerlendirilmiştir. Sedasyon derinliği standardize edilmemiştir. Deneklerin sedasyon süresince saatlik kalp atım hızları, solunum hızı ve vücut sıcaklıkları kaydedildi. Kafes içi heriki grup için standart nem ve sıcaklıkta (+/-22°C) tutulacaktır. 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyodu uygulandı.

**Tablo 4. Anestezi derinliği skalası**

<b>Skor</b>	<b>Spontan Hareket</b>	<b>Pedal Reflex</b>	<b>Palpebral Reflex</b>	<b>Çene Tonusu</b>	<b>Bacak Manüplasyonu</b>
1	Bütün vücut hareketi	Kuvvetli çekme	Göz kırpma ve diğer vücut hareketleri (kafa döndürme gibi)	Artmış tonus	Bacak ve diğer vücut kısımlarının hareketi
2	Bacak ya da ayak hareketi	Zayıf çekme (hemen)	Normal göz kırpma	Normal tonus	Manipüle edildiğinde hemen çekme
3	Yüz hareketi	Zayıf çekme (gecikmiş)	Zayıf göz kırpma (hemen)	Azalmış tonus	Zayıf çekme
4	Kol veya ayaklarda seğirme	Parmakların extension veya fleksiyonu	Zayıf göz kırpma (gecikmiş)	Minimal tonus	Parmakların extension veya fleksiyonu
5	Hareket yok	Hareket yok	Hareket yok	Tonus yok	Cevap yok

### 3.4.1.Ötenazi gerektiren durumlar

- ❖ Şiddetli dehidrasyon
- ❖ Konvülsiyon ve epileptik davranışların ortaya çıkması
- ❖ Deneğin kendine zarar vermeye başlaması
- ❖ Geçmeyen ishal
- ❖ Beden ısısında belirgin ve kafes ısı artışına rağmen düzelmeyen düşme (<34°C)
- ❖ Solunum güçlüğü gelişmesi

### 3.4.2.Sakrifikasyon

Sakrifikasyon için kullanılan inhaler ve yüksek doz iv anestezi ajanları; hipotalamik refleks yanıtını etkileyip santral termoregülasyonu inhibe ettiklerinden dolayı (146) 24 saatin sonunda tüm denekler >%70 karbondioksit inhalasyonu ve ardından giyotin ile sakrifiye edildi.



### **3.4.3. Diseksiyon**

Bütün deneklerde hipotalamus diseksiyonu aynı araştırmacı tarafından yapılmıştır. Dekapitasyon sonrası hıxlıca kranium açıldı ve beyin çıkarıldı. Beyin alanları aşağıdaki sırayla diseksiyonla çıkarıldı. Olfaktör bulbus, bulbus tabanından diseke edildi. Hipotalamus, optik kiazmanın hemen önünden, hipotalamik sulkusun lateralinden, mamiller cisimciklerin posteriorundan ve dorsalde anterior komissür bir düzlem boyunca ve ventral hipotalamik yüzeye paralel olarak diseke edildi.(147,148) Diseksiyon işlemi dekapitasyondan sonra 2 dakika içinde bitirilmiş ve -80 °C buzdolabına konulmuştur.

### **3.4.4. Transfer**

Alınmış örnekler -80°C'de dondurucuda saklamaya alındı, proteomiks çalışılmak üzere referans laboratuvara (İstanbul Medipol Üniversitesi REMER) soğuk zincir ile transfer edildi. Laboratuvarda çalışılana kadar -80°C'de dondurucuda muhafaza edildi.

### **3.4.5. Proteomiks yöntemi**

Hipotalamus dokusundan elde edilmiş toplam protein karışımı ön ayırım yapılmaksızın tripsin enzimi ile parçalanarak peptit yapısında incelendi. Tümevarımsal (bottom-up) proteomiks ile kısmi sekanslar üzerinden protein tanımlama işlemi yapıldı.

#### **3.4.5.1. FASP (Filter-Aided Sample Preparation) protokolü:**

Protein örnekleri daha önce tanımlanmış protokole göre SYNAPT2-Si yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi ile birleştirilmiş ACQUITY UPLC M sınıfı cihazı ile analiz edilebilmesi için peptitlere kadar parçalandı ve cihaz ile analize hazır hale getirildi. FASP protein parçalama kiti (44250, Expedon) kullanıldı. 50 µg protein örneğı 50 mM amonyum bikarbonat ortamında 50:1 veya 100:1 oranında tripsin enzimi ile muamele edildi. Sonrasında örnekler 16 saat süresince 37 °C'de inkübe edildi. Ertesi gün 14,000 g'de 10 dk süresince santrifüj edildi ve elde

edilen peptitler liyofilizatör cihazı kullanılarak liyofilize hale getirildi. Bu aşama sonrasında liyofilize halde bulunan peptitler istenilen miktarda %0,1 konsantrasyonunda formik asit ile çözdürülüp son konsantrasyonu 100 ng / µL olacak şekilde hazırlandı.

#### 3.4.5.2. Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) Analizi:

FASP protokolü kullanılarak elde edilen peptitler SYNAPT G2-Si yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi ile birleştirilmiş ACQUITY UPLC M sınıfına yüklenerek hesaplandı. Kolonlar %97 mobil faz A (%0,1 FA içeren UHPLC'li su) ve sıcaklık 55°C' ye ayarlandı. Peptitler analitik kolona trap kolondan (Symmetry C18, 5 µm, 180 µm i.d. × 20 mm, Waters), analitik kolona 90 dk dereceli ayrıştırma ile trap kolonundan (CSH C18, 1,7 µm, 75 µm i.d. × 250 mm, Waters) ayrıştırıldı. Bu ayrıştırma işleminin %0,1 FA (h/h) içeren, gradyeni %4'den %40'a olan ACN ile dakikada 0,400 µl akış hızıyla yapılması sağlandı. MS ve MS/ MS taramalarının pozitif iyon modu ile 0,7 saniyelik döngülerle taramalar yapılarak 10 volt düşük çarpışma enerjisi ve 30V yüksek çarpışma enerjisi olarak ayarlandı. İyonlar, iyon hareketlilik ayrımı ile ayrıştırıldı. Dalga hızı, tam IMS döngüsü boyunca 1000'den 55 m / s' ye yükseltildi. Hareket kabiliyeti için serbest bırakma süresi 500 µs, trap yüksekliği 15 V olarak ayarlandı. IMS dalga gecikmesi, kapanın serbest bırakılmasından sonra hareketlilik ayrımı için 1000 µs idi. Prekürsör iyon ön seçimi olmaksızın, 50-1900 m / z aralığındaki tüm iyonlar çözünürlük modunda parçalanması sağlandı. Waters marka quadropole-TOF hibrid analizörlere sahip yüksek çözünürlüklü Synapt G2-Si cihazı ile her biri 90 dakika süren ve yukarıda bahsedilen rutin analizlerde kullanılan protokol uygulandı. (149–152)

#### 3.4.6. Biyoinformatik

Elde edilen ham veri PLGS Threshold Inspector ve PLGS 3.0.1 biyoinformatik araçlar kullanılarak protein tayini yapıldı. Fazla sayıda örneğin toplu halde karşılaştırmalı analizli için Progenesis QIP yazılımı kullanılarak gerekli istatistiksel hesaplamalar da yapılarak gruplar arasında ekspresyonu farklı olan proteinler tespit edildi. Deney ve kontrol grubu arasında 1,4 kat değişikliği (fold change) ve p <0.05 düzeyi anlamlı kabul edildi.

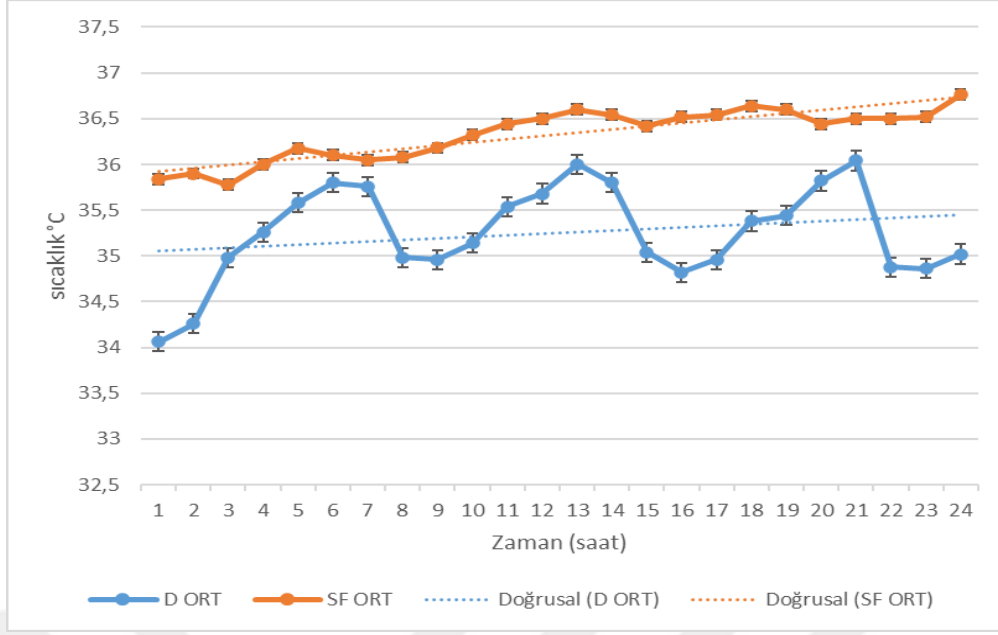
Deney ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılıklar gösteren proteinler Gen Seti Zenginleştirme Analizi (GSEA) yapılarak tespit edildi. Sıçan protein IDleri, önceden sıralanmış gen seti zenginleştirme analizi için insan ortologlarına dönüştürüldü ve MSigDB veritabanı v7.0 “tüm kanonik yollar” gen seti (c2.cp.v7.0.symbols.gmt) “fgsea” R paketi ile birlikte kullanıldı. Sonuçlardan elde edilen negatif log p değerleri (koşullar arasındaki değişimin yönüne göre işaretlenmiştir) genleri önem derecesine göre sıralamak için ANOVA kullanılmıştır. Her bir yolak için bir enrichment skoru (ES), en fazla up regüle olan yolaktan en fazla down regüle olana doğru sıralanmış gen listesinde sum-istatistik değiştirilerek hesaplandı. Değişimin büyüklüğü Wald istatistiğinin amplitüdüne bağlı olup, yönü ise işarete bağlıydı. Son ES, yürüyüş sırasında gözlemlenen sıfırdan maksimum sapmadır (ağırlıklı Kolmogorov-Smirnov benzeri istatistiğe karşılık). ES'nin istatistiksel anlamı, ES için anlamsız bir dağılım oluşturan bir permütasyon testi (n = 10000) kullanılarak tahmin edildi. Bu, anlamsız dağılıma göre gözlenen değer p değerini hesaplamak için kullanıldı. Gen setinin boyutuna göre her yolak için ES normalize edildi ve normalize edilmiş bir zenginleştirme skoru (NES) elde edildi.

## **4. BULGULAR**

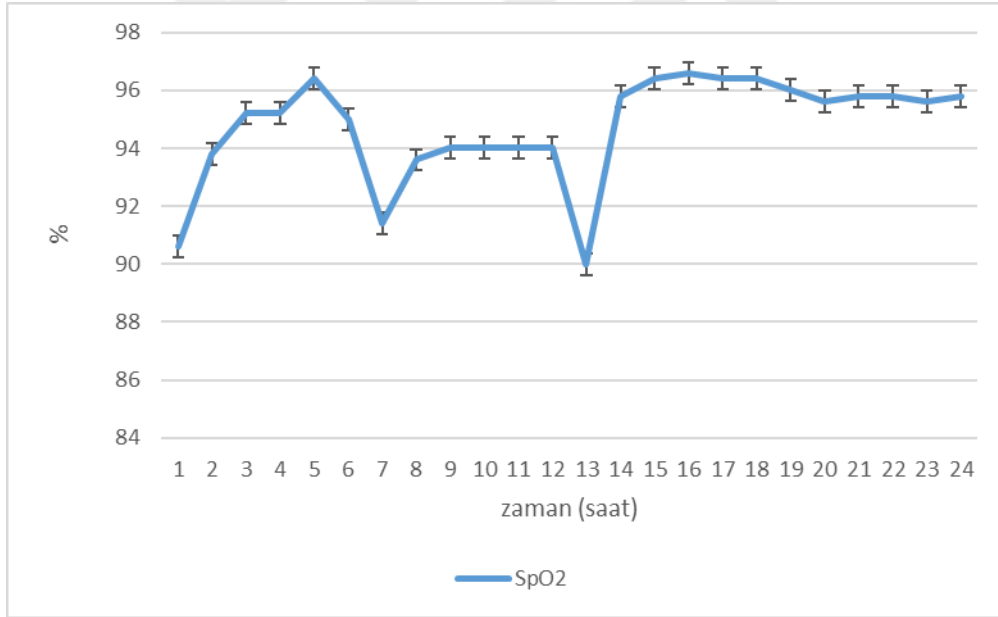
### **4.1. Vital bulgular**

24 saat boyunca takip edilen deney grubunun saatlik vücut sıcaklıkları, saturasyon (Sat), kalp tepe atımları (KTA), solunum sayıları(ss) ve sedasyon skalasına göre sedasyon puanları kaydedilmiştir.

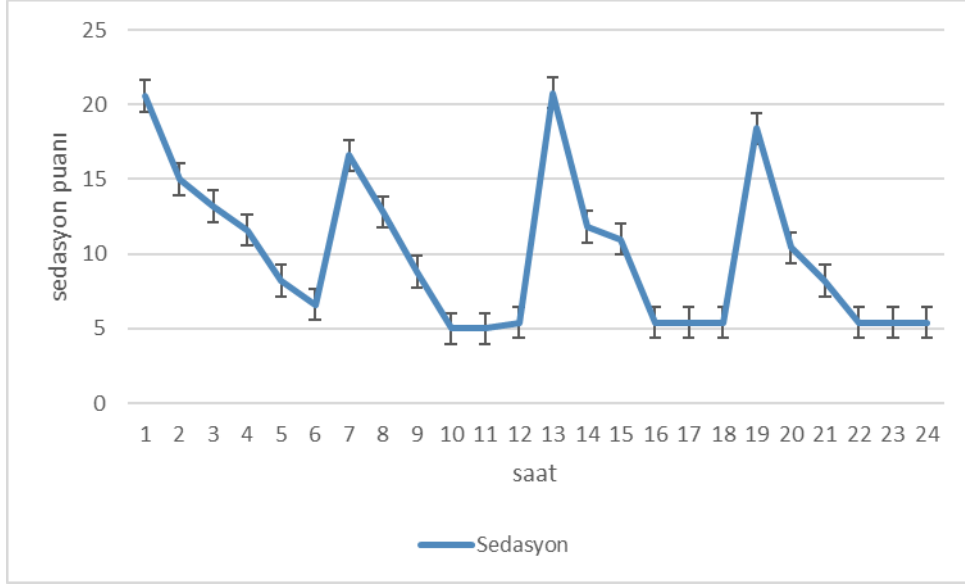
24 saat boyunca takip edilen kontrol grubunun (Serum fizyolojik verilen) sadece saatlik vücut sıcaklıkları kaydedilmiştir. Sedasyon verilmediği için sedasyon puanı en düşük değerde sabit olarak kabul edilmiştir. KTA ve saturasyon değerleri sedasyon almayan hayvanlarda teknik olarak mümkün olmadığı için alınmamıştır. Bu verilerin zamana göre değişimleri Grafik 1,2,3 ve 4'te gösterilmiştir.



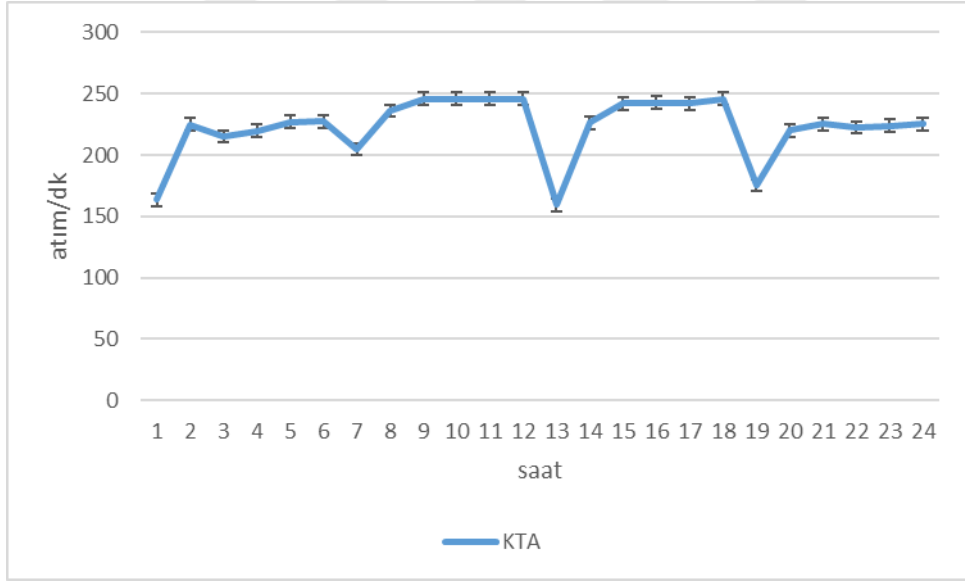
**Grafik 1. İki grubun sıcaklık zaman eğrileri**



**Grafik 2. Saturasyonun zamana göre değişimi**



**Grafik 3. Sedasyon puanının zamana göre değişimi**



**Grafik 4. Kalp atım hızının zamana göre değişimi**

**Tablo 5. Saatlik vücut sıcaklığı ortalamalarının iki grup arasında anlamlılığı**

Süre	Deney grubu Ortanca (min-max)	Kontrol grubu Ortanca (min-max)	P değeri
1. saat	34,3 (33,2-35,0)	36,0 (35,3-36,4)	<b>0,016</b>
2. saat	35,0 (34,0-35,6)	35,9 (35,1-36,2)	0,063
3. saat	35,5 (34,5-35,7)	36,1 (35,4-36,4)	0,111
4. saat	35,8 (35,0-36,0)	36,1 (35,8-36,7)	0,190
5. saat	36,0 (35,3-36,3)	36,1 (35,8-36,5)	0,413
6. saat	35,9 (35,0-36,2)	36,1 (35,4-36,6)	0,413
7. saat	35,0 (34,2-36,0)	36,2 (35,9-36,4)	<b>0,016</b>
8. saat	35,4 (34,0-36,1)	36,3 (36,1-36,5)	<b>0,008</b>
9. saat	35,3 (34,3-36,7)	36,4 (36,2-36,8)	0,095
10. saat	35,7 (34,4-36,8)	36,5 (36,1-36,7)	0,151
11. saat	36,2 (35,0-36,5)	36,6 (36,5-36,7)	<b>0,008</b>
12. saat	36,0 (35,4-36,2)	36,5 (36,4-36,7)	<b>0,008</b>
13. saat	35,0 (34,3-35,3)	36,4 (36,3-36,9)	<b>0,008</b>
14. saat	35,1 (34,3-35,2)	36,5 (36,2-37,0)	<b>0,008</b>
15. saat	35,3 (34,0-36,7)	36,7 (36,2-37,1)	0,151
16. saat	35,0 (34,8-36,4)	36,6 (36,3-36,8)	<b>0,016</b>
17. saat	35,4 (35,0-36,8)	36,4 (36,3-36,6)	0,690
18. saat	36,0 (35,5-37,0)	36,4 (36,2-36,8)	0,151
19. saat	34,9 (33,9-36,2)	36,5 (36,1-36,8)	<b>0,016</b>
20. saat	34,6 (34,1-36,0)	36,8 (36,6-36,9)	<b>0,008</b>
21. saat	35,0 (34,8-36,2)	36,8 (36,3-37,0)	<b>0,008</b>
22. saat	35,4 (35,0-36,3)	36,7 (36,2-37,1)	<b>0,016</b>
23. saat	35,6 (35,3-36,2)	36,8 (36,4-36,9)	<b>0,008</b>
24. saat	35,9 (35,0-36,0)	36,8 (36,2-36,9)	<b>0,008</b>

İki grubun saatlik vücut sıcaklıklarının ortalama değerleri arasındaki fark tablo 5'te rakamsal olarak grafik 1' de iki ayrı eğri şeklinde gösterilmiştir. Özellikle son 6 saat ortalamalarında deney grubunda anlamlı vücut sıcaklığı düşüşü gözlenmiştir. Vücut sıcaklığı, saturasyon ve kalp atım hızının grafikte 4 dalga oluşturdukları gözlenmiştir. Bu dalgaların ip. doz saatleriyle uyumlu olduğu gözlenmiştir. Saturasyon, kalp hızı, solunum sayıları ve sedasyon puanları arasında Spearman korelasyon testi yapılmıştır. Tablo 6' da sig (2-tailed) satırı p değerine karşılık gelmektedir. Isı, KTA, ss ve SpO2 değerlerinin birbirleriyle karşılaştırıldıklarında  $p > 0.05$  oldukları ve birbirleriyle korelasyon göstermedikleri hesaplanmıştır.

**Tablo 6. Korelasyon testleri**

		Isı ortalama	KTA ortalama	Spo2 ortalama	Solunum sayısı ortalaması
Isı ortalaması	Korelasyon katsayısı	1.000	-.100	-.100	-.200
	Sig.(2-tailed)	.	.873	.873	.747
	N	5	5	5	5
KTA ortalaması	Korelasyon katsayısı	-.100	1000	.800	-.100
	Sig.(2-tailed)	.873	.	.104	.873
	N	5	5	5	5
SpO2 ortalaması	Korelasyon katsayısı	-.100	.800	1000	.400
	Sig.(2-tailed)	.873	.104	.	.505
	N	5	5	5	5
Solunum sayısı ortalaması	Korelasyon katsayısı	-.200	-.100	.400	1000
	Sig.(2-tailed)	.747	.873	.505	.
	N	5	5	5	5

#### 4.2. Moleküler veriler

Deksmetomidin uygulanmış grubun hipotalamus örnekleri (grup D ) ve serum fizyolojik uygulanmış grubun (Grup SF) hipotalamus örnekleri arasında, sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (LC-MS/MS) tabanlı proteomiks analizine göre tanımlanan 866 protein içinden toplamda 49 protein istatistiksel olarak ( $p \leq 0,05$ ) anlamlı bulunmuştur. Bu proteinler sırasıyla Tablo 7' de listelenmiştir.



**Tablo 7. LC-MS/MS analizine göre istatistiksel olarak ( $p \leq 0,05$ ) anlamlı bulunan proteinler**

	<b>Erişim numarası</b>	<b>Sembol</b>	<b>Protein</b>	<b>P değeri</b>
<b>1</b>	O35814	Stip1	Stress-induced-phosphoprotein 1	0,036
<b>2</b>	P00406	Mtco2	Cytochrome c oxidase subunit 2	0,034
<b>3</b>	F1LPP0	Amph	Amphiphysin	0,048
<b>4</b>	P12785	Fasn	Fatty acid synthase	0,001
<b>5</b>	G3V6W6	Psmc6	Proteasome 26S subunit, ATPase 6	0,015
<b>6</b>	Q3S4A4	Arfgap1	ADP-ribosylation factor GTPase activating protein 1 heart isoform	0,015
<b>7</b>	P35467	S100a1	Protein S100-A1	0,018
<b>8</b>	A0A0H2UHH3	Abcb8	Mitochondrial potassium channel ATP-binding subunit	0,045
<b>9</b>	P40307	Psmb2	Proteasome subunit beta type-2	0,001
<b>10</b>	Q9ER24	Atxn10	Ataxin-10	0,031
<b>11</b>	P60892	Prps1	Ribose-phosphate pyrophosphokinase 1	0,017
<b>12</b>	B2GUZ5	Capza	F-actin-capping protein subunit alpha-1	0,031
<b>13</b>	P04904	Gsta3	Glutathione S-transferase alpha-3	0,002
<b>14</b>	Q6AZ40	Prpsap2	Phosphoribosyl pyrophosphate synthase-associated protein 2	0,033
<b>15</b>	G3V9N8	Ap1b1	AP complex subunit beta	0,048
<b>16</b>	P11507	Atp2a2	Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 2	0,044
<b>17</b>	B0BNE5	Esd	S-formylglutathione hydrolase	0,004
<b>18</b>	G3V624	Coro1c	Coronin	0,006
<b>19</b>	P50399	Gdi2	Rab GDP dissociation inhibitor beta	0,016
<b>20</b>	Q5XIM9	Cct2	T-complex protein 1 subunit beta	0,048
<b>21</b>	Q6P7S1	Asah1	Acid ceramidase	0,007
<b>22</b>	R9PXR4	Tomm70	Mitochondrial import receptor subunit TOM70	0,041
<b>23</b>	A0JPJ7	Ola1	Obg-like ATPase 1	0,030

24	D3ZUY8	Ap2a1	AP-2 complex subunit alpha	0,030
25	F1LRV4;O88600	Hspa4	Heat shock 70 kDa protein 4	0,034
26	P32551	Uqerc2	Cytochrome b-c1 complex subunit 2, mitochondrial	0,023
27	A0A0G2K8Q8	Uqcr10	Ubiquinol-cytochrome c reductase, complex III subunit X	0,032
28	D4A6C5	Arhgap1	Rho GTPase-activating protein 1	0,019
29	D3ZS58	Ndufa2	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 2	0,007
30	P0C5X8	Ttyh1	Protein tweety homolog 1	0,001
31	P09951	Syn1	Synapsin-1	0,044
32	P61107	Rab14	Ras-related protein Rab-14	0,022
33	D3ZBS2	Itih3	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3 O	0,006
34	M0R5J4		2-phospho-D-glycerate hydro-lyase	0,048
35	P03889	Mtnd1	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1	0,034
36	P70580	Pgrmc1	Membrane-associated progesterone receptor component 1	0,007
37	P11348	Qdpr	Dihydropteridine reductase	0,043
38	P62986	Uba52	Ubiquitin-60S ribosomal protein L40	0,001
39	F1LST4	Mapt	Microtubule-associated protein	0,010
40	P13668	Stmn1	Stathmin	0,027
41	P0DP30	Calm2	Calmodulin-2	0,048
42	G3V804	Sfxn3	Sidoreflexin	0,012
43	P32851	Stx1a	Syntaxin-1A	0,044
44	P50408	Atp6v1f	V-type proton ATPase subunit F	0,010
45	B2GUZ9	Fam49b	Fam49b protein	0,039
46	D4A1V5	Kif21a	Kinesin family member 21A	0,020
47	Q91XV6	Fxyd6	FXDYD domain-containing ion transport regulator 6	0,011
48	P63041	Cplx1	Complexin-1	0,039
49	P47987	Plip	Plasmolipin	0,047

Grup D ve Grup SF hipotalamusları arasında LC-MS/MS tabanlı proteomiks analizine göre tanımlanan 866 protein içinde kat değişimi anlamlı kabul edilen ( $\geq 1.4$ -kat değişimi) 9 adet protein belirlenmiştir. Bu proteinler sırasıyla Glutasyon S-transferaz omega-1, Eritrosit membran protein bandı 4.1 benzeri 2, Mikrozomal glutasyon S-transferaz 3, Stres ile indüklenen fosfoprotein 1, Keratin, tip II hücre iskeleti 73, Aquaporin-4, CAP-Gly alanı içeren bağlayıcı protein 1, Sitokrom c oksidaz alt birimi 2, Kompleks I-9kD olarak Tablo 8’de listelenmiştir.

LC-MS/MS analizinin tüm verileri değerlendirildiğinde tanımlanan 866 protein içinde Stres ile indüklenen fosfoprotein 1 ve Sitokrom c oksidaz alt birimi 2 proteinlerinin hem istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0,05$ ) hem de kat değişimi açısından anlamlı ( $\geq 1.4$ -kat değişimi) bulunmuştur ve Tablo 9’da gösterilmiştir.

**Tablo 8. LC-MS/MS analizine göre kat değişimi ( $\geq 1.4$ ) anlamlı bulunan proteinler**

	Erişim numarası	Sembol	Protein	Kat değişimi
1	Q9Z339	Gsto1	Glutasyon S-transferaz omega-1	1,93
2	D3ZDT1	Epb4112	Eritrosit membran protein bandı 4.1 benzeri 2	1,72
3	D4ADS4	Mgst3	Mikrozomal glutasyon S-transferaz 3	1,57
4	O35814	Stip1	Stres ile indüklenen fosfoprotein 1	1,53
5	A0A0G2JXH6	Krt73	Keratin, tip II hücre iskeleti 73	1,48
6	P47863	Aqp4	Aquaporin-4	1,46
7	A0A0G2K681	Clip1	CAP-Gly alanı içeren bağlayıcı protein 1	1,44
8	P00406	Mtco2	Sitokrom c oksidaz alt birimi 2	1,44
9	G3V644	Ndufv3	Kompleks I-9kD	1,43

**Tablo 9. LC-MS/MS analizine göre istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0,05$ ) ve kat değişimi açısından anlamlı ( $\geq 1.4$ -kat değişimi) bulunan proteinler**

	Erişim numarası	Sembol	Protein	Kat değişimi	P değeri
1	O35814	Stip1	Stres ile indüklenen fosfoprotein 1	1,53	0,036
2	P00406	Mtco2	Sitokrom c oksidaz alt birimi 2	1,44	0,034

GSEA analizi ile normalleştirilmiş zenginleştirme skoruna (NES) göre anlamlı bulunan 15 adet pathway arasından 5 adet pathway deneme grubunda kontrol grubuna göre artmış ekspresyon (up regülasyon), 10 adet pathway deneme grubunda kontrol grubuna göre azalmış ekspresyon (down regülasyon) göstermiştir. Artış gösteren yollar NES'e göre sırasıyla 'biyolojik oksidasyonlar, yağ asidi metabolizması, interleukin 12 stimülasyonu sonrası jak stat sinyali ile gen ve protein ekspresyonu, proteozom, çözümlenir ekzojen antijen endozomlarının çapraz sunumu, poliaminlerin metabolizması, IL12 sinyali, IL 12 ailesi sinyali, eksternal uyaranlara hücrel tepkiler, strese hücrel yanıt' olarak Tablo 10'da gösterilmiştir.

**Tablo 10. Up regülasyon gösteren anlamlı yolların normalleştirilmiş zenginleştirme puanlarına (NES) göre sıralanmış listesi**

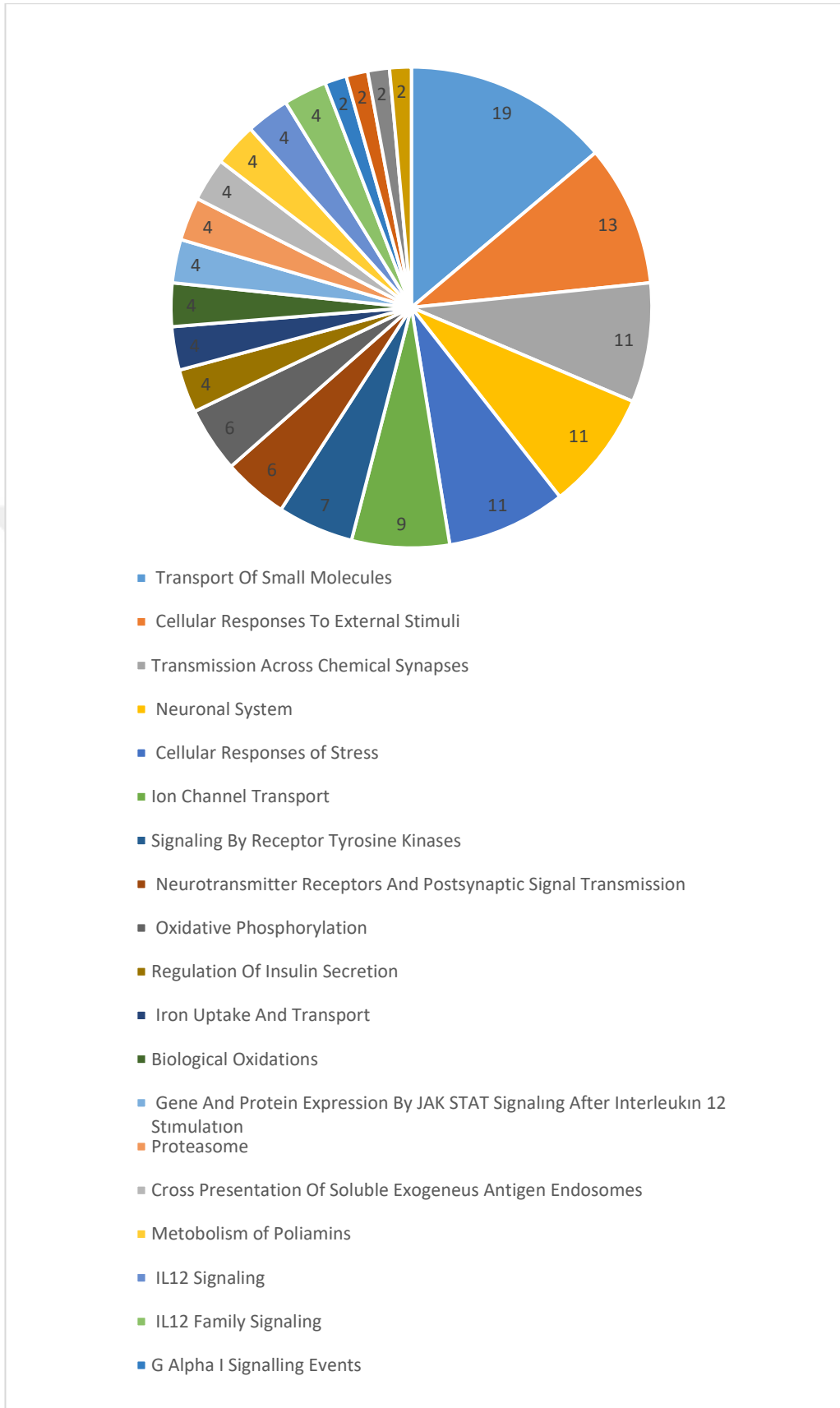
<i>Pathway</i>	<i>Program</i>	<i>NES</i>	<i>P değeri</i>
Biological Oxidations	Reactom	1.78	0.006
Fatty Acid Metabolism	Reactome	1.61	0,026
Gene And Protein Expression By JAK STAT Signaling After Interleukin 12 Stimulation	Reactome	1.62	0,026
Proteasome	KEGG	1.60	0,031
Cross Presentation of Soluble Exogenous Metabolism of Poliamins	Reactome	1.60	0.031
Metabolism of Poliamins	Reactome	1.60	0.031
IL12 Signaling	Reactome	1.58	0.033
IL12 Family Signaling	Reactome	1.58	0.037
Cellular Responses To External Stimuli	Reactome	1.40	0.037
Cellular Responses of Stress	Reactome	1.38	0.040

NES'e göre sırasıyla azalış gösteren 'G Alpha I Sinyal Olayları, İnsülin Salgısının Düzenlenmesi, İyon Kanalı Transportu, Opioid Sinyali, GPCR ile Sinyal, Demir Uptake ve Transportu, Reseptör Tirozin Kinazlarla Sinyal, Nörotransmitter Reseptörleri ve Postsinaptik Sinyal İletimi, Oksidatif Fosforilasyon, Kimyasal Sinapslardan İletim, Nöronal Sistem, Küçük Moleküllerin Taşınması' yolları Tablo 11'de gösterilmiştir.

**Tablo 11. Down regülasyon gösteren anlamlı yolların normalleştirilmiş zenginleştirme puanlarına (NES) göre sıralanmış listesi**

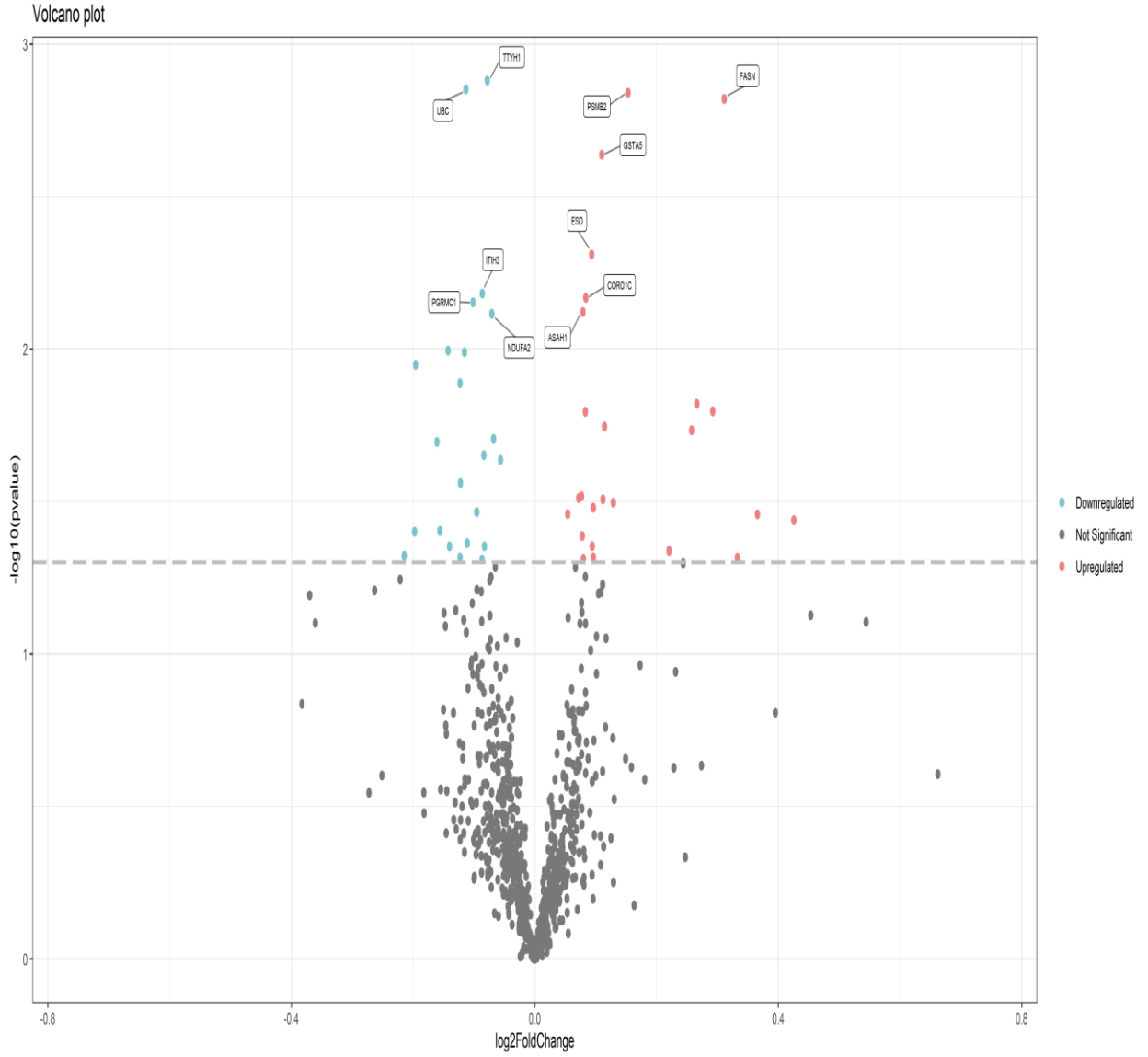
<i>Pathway</i>	<i>Program</i>	<i>NES</i>	<i>P</i>	<i>P adj değeri</i>
G Alpha I Signalling Events	Reactome	1.82	0.001	0.20
Regulation Of Insulin Secretion	Reactome	1.78	0.003	0.20
Ion Channel Transport	Reactome	1.76	0.003	0.20
Opioid Signaling	Reactome	1.78	0.003	0.20
Signaling By GPCR	Reactome	1.69	0.007	0.27
Iron Uptake And Transport	Reactome	1.67	0.012	0.39
Signaling By Receptor Tyrosine Kinases	Reactome	1.53	0.019	0.40
Neurotransmitter Receptors And Postsynaptic Signal Transmission	Reactome	1.49	0.03	0.40
Oxidative Phosphorylation	KEGG	1.44	0.03	0.40
Transmission Across Chemical Synapses	Reactome	1.42	0.03	0.40
Neuronal System	Reactome	1.42	0.03	0.40
Transport Of Small Molecules	Reactome	1.34	0.04	0.47

Başlıca yollar içerisinde anlamlı bulunan proteinlerin yüzdelik oranı piechart olarak Şekil 8 'de gösterilmiştir. Yüzdelik olarak en fazla proteini içeren anlamlı pathwayler sırasıyla Küçük Moleküllerin Taşınması %19, Eksternal Uyarılara Hücrel Yanıtlar %13, Kimyasal Sinapslar Arası İletim %11, Nöronal Sistem %11, Strese Hücrel Yanıtlar %11, İyon Kanalı Transportu %9, Reseptör Tirozin Kinazlarla Sinyalleşme %7, Oksidatif Fosforilasyon % 6, Nörotransmitter Reseptörleri ve Postsinaptik Sinyal İletimi %6, İnsülin Salgısının Düzenlenmesi % 4, Demir Uptake ve Transportu %4, Biyolojik Oksidasyonlar %4, İnterlökin 12 Stimülasyonu Sonrası JAK STAT Sinyali İle Gen Ve Protein Ekspresyonu %4, Proteazom %4, Çözünür Ekzojen Antijen Endozomlarının Çapraz Sunumu %4, Poliamin Metabolizması %4, IL12 Sinyali %4, IL12 Ailesi Sinyali %4, Opioid Sinyali %2 , GPCR ile Sinyal Verme 2, Yağ Asidi Metabolizması %2, G Alpha I Sinyal Olayları %2 olarak bulunmuştur.



**Şekil 6. Yolaklar içerisinde anlamlı bulunan proteinlerin yüzdelik oranları**

R programlama dili ile oluşturulan Volcano plot grafiğinde, her proteinin Progenez yazılımı kullanılarak ölçülen kat değişiminin logaritması ( $\log_2$  fold change  $< 1$ ) ve Progenez yazılımı kullanılarak ölçülen p değeri, kontrol grubu ile karşılaştırılarak şekil 9’da gösterilmiştir.



**Şekil 7. Diferansiyel olarak eksprese edilen proteinlerin profilinin volcano plot ile gösterimi**

Gen seti zenginleştirme analizi (GSEA) ile NES'e göre up regülasyon gösteren yolların anlamlı bulunan protein üyeleri erişim numaralarıyla p değerleri ve kat değişimleriyle beraber Tablo 12'de gösterilmiştir.

NES'e göre up regülasyon gösteren yolların anlamlı bulunan protein üyeleri erişim numaralarıyla p değerleri ve kat değişimleriyle beraber Tablo 13, Tablo 14, Tablo 15, Tablo 16, Tablo 17 ve Tablo 18 olarak 9. Bölüm Ek Tablolar'da gösterilmiştir.

**Tablo 12. Up regülasyon gösteren yollar ve proteinler**

Biyolojik	<i>Protein</i>	<i>Erişim</i>	<i>Kat</i>	<i>P</i>
oksidasyonlar		<i>numarası</i>	<i>değişimi</i>	<i>değeri</i>
	Glutathione S-transferase alpha-3	P04904	1,11	0,002
	S-formylglutathione hydrolase	B0BNE5	1,09	0,004
	Aldehyde dehydrogenase X, mitochondrial	G3V7I5	1,11	0,05
	Microsomal glutathione S-transferase 3	D4ADS4	1,57	0,07
	Glutathione S-transferase Mu 2	P08010	1,10	0,19
	Glutathione S-transferase omega-1	Q9Z339	1,93	0,24
	Glutathione S-transferase Mu 1	P04905	1,04	0,25
	Aminoacylase-1A	Q6AYS7	1,05	0,35
	Maleylacetoacetate isomerase	P57113	1,06	0,40
Yağ asidi metabolizması	Fatty acid synthase	P12785	1,36	0,001
	Very-long-chain (3R)-3-hydroxyacyl-CoA dehydratase	D4ABI7	1,07	0,07
	Trifunctional enzyme subunit alpha, mitochondrial	Q64428	1,07	0,153
	Very-long-chain 3-oxoacyl-CoA reductase	D3ZPU3	1,123	0,17
	Tricarboxylate transport protein, mitochondrial	P32089	1,06	0,17
	Trifunctional enzyme subunit beta, mitochondrial	Q60587	1,07	0,29
	3-ketoacyl-CoA thiolase,	P13437	1,04	0,45



	mitochondrial			
	Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	P15650	1,06	0,48
İnterlökin 12 Stimülasyonu Sonrası JAK STAT Sinyali İle Gen Ve Protein Ekspresyonu	F-actin-capping protein subunit alpha-1	B2GUZ5	1,11	0,03
	Macrophage migration inhibitory factor	P30904	1,27	0,05
	Phosphatidylinositol transfer protein alpha isoform	P16446	1,04	0,18
	Ras-related protein Rap-1A	Q62636	1,07	0,19
	Superoxide dismutase [Mn], mitochondrial	P07895	1,02	0,39
	T-complex protein 1 subunit alpha	P28480	1,02	0,44
	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1	F1LNF1	1,03	0,49
	60S acidic ribosomal protein P0	P19945	1,03	0,51
	Proteozom	Proteasome subunit beta type-2	P40307	1,16
Proteasome 26S subunit, ATPase 6		G3V6W6	1,33	0,01
Proteasome subunit alpha type-2		P17220	1,12	0,08
Proteasome subunit beta type-3		P40112	1,06	0,35
Eksternal Uyarılara Hücresel Tepkiler, Strese Hücresel Yanıt	Heat shock 70 kDa protein 4	F1LRV4	1,05	0,03
	Stress-induced-phosphoprotein 1	O35814	1,53	0,03
	Mitochondrial import receptor subunit TOM70	R9PXR4	1,08	0,04
	Alpha-centractin	P85515	1,06	0,13
	Glycogen synthase kinase-3 beta	P18266	1,07	0,23
	Peroxiredoxin-6	O35244	1,07	0,24
	Thioredoxin-dependent peroxide reductase, mitochondrial	Q9Z0V6	1,04	0,24
	14-3-3 protein epsilon	P62260	1,05	0,25
	Heat shock protein HSP 90-alpha	P82995	1,02	0,33
Mitogen-activated protein kinase	F1LP57	1,05	0,33	

kinase 4			
Cytochrome c, somatic	P62898	1,06	0,38
Tubulin beta chain	B4F7C2	1,03	0,40
Cyclin-dependent kinase inhibitor 2C	Q8R5G4	1,04	0,43

## 5. TARTIŞMA

Yoğun bakımda hipertermi özellikle birden fazla patolojiye sahip ve birden fazla ilaç tedavisi alan kritik hastalarda yaygın olarak görülmektedir. Hipertermi, özellikle kritik hastalarda hücre ölümü, ekstrasvazyon, vasküler staz gibi lokal hasarlardan akut böbrek yetmezliği, gastrointestinal dislokasyona bağlı sepsis, pulmoner ödem, kardiyak disfonksiyon, koagülopati, karaciğer yetmezliğine kadar büyük klinik öneme sahip durumlarla sonuçlanır ve mortaliteyi artırır. (153,154)

Amerikan Yoğun Bakım Tıbbı ve Enfeksiyon Hastalıkları Derneği'ne göre 38°C ve üstü vücut sıcaklığı ateş olarak tanımlanır.(155) Ateş, hipertermi ve hiperpireksi terminolojik olarak birbirinin yerine kullanılabilir fakat yaygın olarak hipotalamus kaynaklı olan durum ateş olarak tanımlanmaktadır. Deksmetomidin kaynaklı vücut sıcaklığı yükselmesi durumu literatürde her üç terminolojiyle de kullanılmıştır.(5,107,156) Çalışmamızda hipotalamus etkileri tartışıldığından dolayı bir 'ateş' durumu olarak tanımlanması doğru olacaktır.

$\alpha_2$  agonist reseptörlerinin inhibisyonu yoluyla kahverengi yağ dokusu termogenezini ve titremeyi engelleyerek ateşi düşürmeyi öneren yayınlar olmasına karşı bir  $\alpha_2$  agonist olan deksmedetomidinin neden olduğu ateşle ilgili deneyimlerini bildiren yayın sayısı gittikçe artmaktadır.(157) Santral etkili  $\alpha_2$  adrenerjik agonist olan deksmedetomidinin nörotransmitter ekspresyonu ve metabolizmasındaki bozulmalar nedeniyle hipotalamik sıcaklık düzenlemesini değiştirebilebileceği veya nöreptik malign sendrom, malign hipertermi gibi periferik mekanizmalarla hipertermiyi tetikleyebileceği düşünülmektedir. (3) Bu konuda kesin bir fikir verebilecek yeterli literatür olmaması nedeniyle deksmedetomidine bağlı ateşin

sadece santral etkisini incelediğimiz bu çalışmanın ileri çalışmalara yön verebilecek bir ön çalışma olduğuna inanıyoruz.

Çalışma metodunda deksmedetomidin ile sağlanan anestezi derinliği ile bir miktar kalp atım hızı ve saturasyon düşüşü beklenmiştir (2) aynı zamanda ip. enjeksiyon sonrası bradikardi ve apne de gelişebileceği endişesiyle sadece deney grubunda saturasyon ve kalp atım hızı takip edilmiştir. Gelişebilecek yan etkileri tespit edilebilmiş ve sedasyon skorlaması yapılarak verilen dozun anestezi derinliğinin sağlandığından emin olunmuştur.

Grayson ve ark. yaptığı olgu serisinde deksmedetomidinin indüklediği düşünülen 39 °C ve üstü vücut sıcaklığına 24-48 saat arasında daha sık rastlanmıştır. Deksmetomidine bağlı hipertermi güçlü bir zamansal ilişkisi olduğu kanısına varılmıştır.(3) Ratlarda iv damar yolunun sürekli açık şekilde uzun süreli infüzyon uygulanması kannibalizmi tetikleyebileceğinden ve teknik açıdan yetersizlikten dolayı tercih edilmemiştir.(158) Bu açıdan infüzyon uygulama yapılamaması kısıtlılıklarımızdan biridir. Deneyimizde Deksmetomidin uygulaması 24 saat ve ip. olarak planlanmıştır. Deksmetomidinin nörolojik etkisini konu alan literatürde, çeşitli ardışık ip. uygulama ile etkin sedasyon ve organ koruyucu etkiler sağlandığı gözlenmektedir. Buna dayanarak çalışmamızda ardışık ip. uygulaması ile infüzyona yakın kararlı ilaç düzeyi oluşturduğumuzu düşünmekteyiz.(128,142,159) Deneyi bitirmek için klinik hipertermi beklenmemiş ve 24 saat sonunda disseksiyon yapılmıştır. Literatürde gecikmiş hipertermi olduğu (48 saat sonra) bildirilmektedir. Bu açıdan bakıldığında olası bu sonuçlar gözlem alanımızın dışında kalmıştır ve çalışmamızın kısıtlılıklarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çalışmamızda deksmedetomidinin hipertermi etkisi klinik olarak gösterilmesi hedeflenmemiştir fakat oluşacak klinik değişiklikler yakın takip edilmiştir. Deksmetomidinin ilaca bağlı hipertermi etkisi mevcut olmasına rağmen uzun süreli anestezi uygulamasının vücut sıcaklığında düşüşe neden olduğu bilinmektedir. (146) Bu durumla uyumlu olarak deney grubunun vücut sıcaklıkları genel olarak daha düşük seyretmiştir. 0-6-12-18. saatlerde ip. enjeksiyonun ardından vücut sıcaklıklarında anlamlı düşümlere neden olarak dalgalanmalar yaratmıştır.(Grafik 1) Özellikle son 6 saat ortalamalarında deney grubunda anlamlı vücut sıcaklığı düşüşü gözlenmiştir.(Tablo 5) Bu durum klinik hipotermi gözlenmiş olmasına rağmen klinik

olarak hipotermi oranının azalmış olabileceği hipotezini akla getirmektedir. Tartışmaya açık olmakla beraber deksmedetomidine bağlı rölatif hipotermi kavramı iyi standardize edilmiş ve daha uzun süre takipli deneysel çalışmalarla sorgulanması gerektiğini düşünmekteyiz. Vücut ısısı düşüşü klinik olarak gözlenmese de göre yine aynı enjeksiyon sonrası saatlerde saturasyonda, kalp hızında belirgin düşüşler gözlenmektedir. Bu bulgulara göre klinik olarak hipertermi sağlanamamış olması deneyin en büyük kısıtlılıklarından biridir.

Proteomiks ile elde edilen veriler yorumlanırken, hem anlamlı olarak değişim gösteren proteinler hem de GSEA ile elde edilen NES'e göre anlamlı değişim gösteren yolaklar değerlendirilmiştir. Aşağıda diğer çalışmalarla karşılaştırılarak ateş ile ilişkisi olabilecek anlamlı proteinler ve kapsadıkları yolaklar birlikte tartışılmıştır.

### ***Deksmedetomidinin 'Eksternal sinyallerle oluşan hücresel cevap' yolağına etkileri;***

Hücreler moleküler ve fiziksel eksternal sinyalleri algılar ve bunlara yanıt verirler. Normal gelişim, dokularda homeostazın korunması ve zararlı maddelere karşı etkili savunma tepkileri için hücrelerin bu sinyallere uygun tepki vermeleri gereklidir.(160) Bu tepkiler, makrotofajiye ve metal iyonlara hücresel cevap, hipoksiye hücresel cevap, reaktif oksijen radikalleri ve ısı stresine hücresel yanıt, hücresel yaşlanma süreci stres tepkileri, steroid hormon reseptörleri için HSP 90 şaperon döngüsü, heme eksikliğine, EIF2AK1 tepkisi, hem sinyalizasyonu, kimyasal strese hücresel yanıt, açlığa hücresel cevap ve katlanmamış proteine hücresel cevap olarak oluşturulur.(161) Hücresel stres genellikle proteinlerin, DNA'nın veya diğer temel makromoleküllerin deformasyonu/hasarıyla sonuçlanır. Hücre stres kaynaklı hasarı değerlendirir ve bunlara karşı koyabilir, hasara karşı toleransı geçici olarak artırır ve/veya programlanmış hücre ölümü (apoptoz) ile son derece hasarlı hücreleri ortadan kaldırır.(160)

Eksternal uyarılara hücresel cevap yolağında 13 proteinin up regülasyonu gözlenmiş olup STIP 1 1.4 üstü kat değişimi ile en anlamlı protein olmuştur. (Tablo 12) Deksmetomidin uygulanan deney grubu ve kontrol grubu arasında STIP 1 hem kat artışı hem istatistiksel anlamlı bir artışla ön plana çıkan proteinlerden biridir.(Tablo 9) STIP 1 artışı HSP 90 ile ilişkisi nedeniyle daha çok tümorogenez ve anti apoptoz mekanizması üzerinden etki ettiği düşünülmüştür. Bu da deksmedetomidinin

antiapoptotik etkisini doğrular niteliktedir.(135) HSP'ler temel olarak sitoproteksiyonda (fizyolojik ve stres koşullarında), nörodejeneratif bozukluklarda rol alırlar.(137) Hipotalamus dokusunda anlamlı artışı, bir stres durumu olan ısı artışına karşı ve hücre ölümüne karşı bir hayatta kalma yanıtı olabileceğini düşündürmektedir. Eksternal uyarılara hücrel cevap yolağında yer alan HSP 70 ve HSP 90  $\alpha$ 'nın kat değişiminin 1' in üstünde olması bu teoriyi destekler niteliktedir.

#### ***Deksmetomidinin proteozom yolağına etkileri;***

Proteozom yolağını etkileyen temel süreçler; ubikuitin-proteozom-otofaji sisteminin eksikliğinden kaynaklanan anormal protein dinamiklerini, oksidatif stres ve serbest radikal oluşumunu, endoplazmik retikulum stresini, mitokondriyal disfonksiyonu ve (ikincil) aksonal taşıma bozulmalarını içerir.(140) Isı şoku, protein ve DNA sentezini çeşitli aşamalarda bozar. RNA ve protein sentezi hiperterminin kesilmesinden sonra hızla düzelebilirken, DNA sentezi daha uzun süre bozuk kalır. Isı şoku, sonrası denatüre proteinler nükleer matriste toplanır.(162) 26S proteozom, özellikle endoplazmik retikulumda katlanmamış protein tepkisi, hücrel stres yanıtı sinyallerine potansiyel düzenleyicileri olarak protein hasar sensörleri olarak fonksiyon görmektedir.

26S proteozomu başta olmak üzere proteozom yolağının up regüle olması (Tablo 10) (Tablo 18) protein hasarı sensörlerinin up regüle olarak daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyduğu bir stres ortamına yani ateşe yanıt olarak değerlendirilebilir.

#### ***Deksmetomidinin oksidatif fosforilasyon ve biyolojik oksidasyon yolağına etkileri;***

Oksidatif fosforilasyonu sağlayan mitokondriyal elektron taşıma zincirindeki enzimlerin işlev bozukluğu veya indirgenmesi elektron sızıntısına ve reaktif oksijen radikallerinin üretimini arttırabilmektedir. Oksidatif stres, aşırı ROS (reaktif oksijen türüleri) oluşumu ile sınırlı antioksidan savunma arasındaki dengesizlikten kaynaklanan çeşitli zararlı süreçleri tanımlamak için kullanılan bir ifadedir.(163) Çalışmamızda oksidatif fosforilasyon yolağında down regüle olan elektron transport zincirine ait proteinler ve biyolojik oksidasyon yolağında up regüle olan antioksidan proteinler mevcuttur. Oksidatif stres yolağında anlamlı down regülasyon gösteren

birden çok protein gibi Sitokrom c oksidaz subünite 2 (Mtco2) de oksidatif fosforasyon yolağında ve genel protein akışında istatistiksel ve kat değişimi olarak en anlamlı çıkan proteinlerden biri olmuştur. (Tablo 11) (Tablo 17)

Lipopolisakkarit (LPS) kullanılarak ateş oluşturulan hipotalamus modellerinde elektron zinciri disfonksiyonu ve azalmış antioksidan aktivite gözlenmiş, nöroinflamasyonun mitokondriyal oksidatif strese neden olduğu, hücre ölümünü önlemek için bir mekanizma olabileceği, ateşli yanıt sırasında hücrenin hayatta kalması çabası olarak yorumlanmıştır.(148,164,165) Bunun çalışmamızdan elde edilen verilerde oksidatif stres yolağında azalmış ekspresyonu kısmen açıklayabileceğini düşünmekteyiz.

Birçok çalışma, Deksmetomidin inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını engellediğini, oksidatif stresi azalttığını, ROS ve antioksidasyonu düzenlediğini ve reperfüzyon hasarını önlemede önemli bir rol oynayabileceğini bildirmiştir.(166–168) Bu bilgiler ışığında LPS çalışmalarından farklı olarak Glutasyon S-transferaz ve alt grupları gibi antioksidan proteinlerin (Tablo 18) up regüle olması antioksidan etkinin ortaya çıkması deksmedetomidin kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir.

### ***Deksmetomidinin yağ asidi metabolizması yolağına etkileri;***

Yağ asidi metabolizması yolağında yağ asidi sentetaz ile birlikte sekiz protein anlamlı olarak up regüle olmuştur.(Tablo 12) Bu proteinler başlıca yağ asidi oluşumu ve uzun zincirli yağ asidi sentezinde rol almaktadır.(139,169)

Stres sırasındaki zar hasarının boyutu ve hücre sel tolerans sınırları, hücre zarının lipid bileşimine, yağ asidi doyunluğuna ve zar akışkanlığına bağlıdır. Uzun zincirli yağ asidi (LCFA) metabolizmasında ve taşınmasında yer alan LCFA-ABC transport proteini, Multifonksiyonel beta oksidasyon proteini, LCFA-CoA ligaz olmak üzere üç stres proteininin strese yanıt olarak membran lipid bileşimindeki değişiklik yapabileceği bildirilmiştir.(160) Deksmetomidin ile elde edilmek istenen ateş durumunda bu proteinlerin artması beklenmektedir fakat bu durum sonuçlarımız ile tutarsızdır. Fakat yağ asidi metabolizmasına ait yolda gelişen değişimlerin deksmedetomidine bağlı başka etkiler yarattığı kesindir, çalışmamızın sonuçlarının gelecekte daha kapsamlı çalışmalara yol göstermesini umuyoruz.

## 6. SONUÇ

Çalışmamızda proteomiks analizi sonuçlarına göre anlamlı protein değişiklikleri ile hedefimiz olan deksmedetomidin-ateş ilişkisinin varlığı ortaya konulmuştur. Literatürde bu ilişkiyi teyit için belirlenmiş herhangi bir yolağın yada protein profilinin olmaması bu alanda yapılacak çalışmaları daima tartışmaya açık hale getirmektedir. Zamanla bu yöndeki çalışmaların artması ile literatürdeki bu belirsizliğin giderileceği kanaatindeyiz. Deksmetomidin uygulaması sonrası tespit edilen HSP 90, HSP 70, STIP 1, MTCO2, PSMC6, FASN proteinlerin anlamlı olarak önplana çıkmaları; eksternal uyarılara hücrel cevap yolağı, proteozome yolağı, biyolojik oksidasyon yolağı, oksidatif fosforilasyon yolağı ve yağ asidi metabolizması yolağındaki değişimlerle ilgili deksmedetomidini olağan şüpheli konumuna düşürmektedir.

Literatürdeki tartışmaları giderecek netlikte çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Deksmetomidinin klinik ısı artışına sebep olan dozu hala tartışmalıdır. Her ne kadar çalışmamızda hipertermi yolağına işaret eden proteinler tespit edilmiş olsa da bu konuda daha iyi standardize edilmiş deneysel çalışmalara ve prospektif klinik çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

## 7. KAYNAKLAR

1. Van Rompaey B, Schuurmans MJ, Shortridge-Baggett LM, Truijen S, Elseviers M, Bossaert L. A comparison of the CAM-ICU and the NEECHAM Confusion Scale in intensive care delirium assessment: an observational study in non-intubated patients. *Crit Care*. 2008;12(1):R16.
2. Leslie K, Eriksson LI, Wiener-Kronish JP, Cohen NH, Fleisher LA, Gropper MA. *Miller's anesthesia*. 9th ed. Elsevier; 2019. 672–675 p.
3. Grayson K, Tobin AE, Lim TK, Reid DE, Ghani M. Dexmedetomidine-associated hyperthermia: a retrospective cohort study of intensive care unit admissions between 2009 and 2016. *Anaesth Intensive Care*. 2017 Nov;45(6):727–36.
4. Thompson RZ, McDonald L, Ziemba K, Tobias JD, Stewart CA. Dexmedetomidine-Associated Fever in a Critically Ill Obese Child. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2018;23(6):486–9.
5. Krüger BD, Kurmann J, Corti N, Spahn DR, Bettex D, Rudiger A. Dexmedetomidine-Associated Hyperthermia: A Series of 9 Cases and a Review of the Literature. *Anesth Analg*. 2017;125(6).
6. LoVecchio F, Pizon AF, Berrett C, Balls A. Outcomes after environmental hyperthermia. *Am J Emerg Med*. 2007 May;25(4):442–4.
7. Yatabe T, Yamashita K, Yokoyama M. Drug fever caused by propofol in the intensive care unit. *J Anesth*. 2015 Oct;29(5):786–9.
8. Vodovar D, LeBeller C, Mégarbane B, Lillo-Le-Louet A, Hanslik T. Drug Fever: a descriptive cohort study from the French national pharmacovigilance database. *Drug Saf*. 2012 Sep;35(9):759–67.
9. Patel RA, Gallagher JC. Drug fever. *Pharmacotherapy*. 2010;30(1):57–69.
10. Dexmedetomidine [Internet]. DrugBank. 2016 [cited 2021 Apr 25]. Available from: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00633>
11. Precedex label [Internet]. US Food and Drug Administration. 1999. Available from:



[https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/1999/210381bl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/1999/210381bl.pdf)

12. Belleville JP, Ward DS, Bloor BC, Maze M. Effects of intravenous dexmedetomidine in humans. I. Sedation, ventilation, and metabolic rate. *Anesthesiology*. 1992 Dec;77(6):1125–33.
13. Correa-Sales C, Rabin BC, Maze M. A hypnotic response to dexmedetomidine, an alpha 2 agonist, is mediated in the locus coeruleus in rats. *Anesthesiology*. 1992 Jun;76(6):948–52.
14. Hall JE, Uhrich TD, Barney JA, Arain SR, Ebert TJ. Sedative, amnestic, and analgesic properties of small-dose dexmedetomidine infusions. *Anesth Analg*. 2000 Mar;90(3):699–705.
15. Anttila M, Penttilä J, Helminen A, Vuorilehto L, Scheinin H. Bioavailability of dexmedetomidine after extravascular doses in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol*. 2003 Dec;56(6):691–3.
16. Li BL, Zhang N, Huang JX, Qiu QQ, Tian H, Ni J, et al. A comparison of intranasal dexmedetomidine for sedation in children administered either by atomiser or by drops. *Anaesthesia*. 2016 May;71(5):522–8.
17. Miller JW, Balyan R, Dong M, Mahmoud M, Lam JE, Pratap JN, et al. Does intranasal dexmedetomidine provide adequate plasma concentrations for sedation in children: a pharmacokinetic study. *Br J Anaesth*. 2018 May;120(5):1056–65.
18. European Public Assessment Report [Internet]. European Medicines Agency. 2016. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/dexdor-epar-product-information\\_en.pdf%0A](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/dexdor-epar-product-information_en.pdf%0A)
19. Venn RM, Karol MD, Grounds RM. Pharmacokinetics of dexmedetomidine infusions for sedation of postoperative patients requiring intensive care. *Br J Anaesth*. 2002 May;88(5):669–75.
20. Iirola T, Aantaa R, Laitio R, Kentala E, Lahtinen M, Wighton A, et al. Pharmacokinetics of prolonged infusion of high-dose dexmedetomidine in critically ill patients. *Crit Care*. 2011;15(5):R257.
21. Dyck JB, Maze M, Haack C, Azarnoff DL, Vuorilehto L, Shafer SL.

- Computer-controlled infusion of intravenous dexmedetomidine hydrochloride in adult human volunteers. *Anesthesiology*. 1993 May;78(5):821–8.
22. Väliälä PA, Ahtola-Sätälä T, Wighton A, Sarapohja T, Pohjanjousi P, Garratt C. Population pharmacokinetics of dexmedetomidine in critically ill patients. *Clin Drug Investig*. 2013 Aug;33(8):579–87.
  23. Zhang T, Deng Y, He P, He Z, Wang X. Effects of mild hypoalbuminemia on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of dexmedetomidine in patients after major abdominal or thoracic surgery. *J Clin Anesth*. 2015 Dec;27(8):632–7.
  24. Weerink MAS, Struys MMRF, Hannivoort LN, Barends CRM, Absalom AR, Colin P. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Dexmedetomidine. *Clin Pharmacokinet*. 2017 Aug;56(8):893–913.
  25. Dutta S, Lal R, Karol MD, Cohen T, Ebert T. Influence of cardiac output on dexmedetomidine pharmacokinetics. *J Pharm Sci*. 2000 Apr;89(4):519–27.
  26. Karol MD, Maze M. Pharmacokinetics and interaction pharmacodynamics of dexmedetomidine in humans. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2000;14(2):261–9.
  27. Xian Feng, Hendrickson Christopher L. MG. High Resolution Mass Spectrometry. *Anal Chem*. 2012;(84):708–19.
  28. Szymusiak R, Gvilia I, McGinty D. Hypothalamic control of sleep. *Sleep Med*. 2007 Jun;8(4):291–301.
  29. Nelson LE, Lu J, Guo T, Saper CB, Franks NP, Maze M. The alpha2-adrenoceptor agonist dexmedetomidine converges on an endogenous sleep-promoting pathway to exert its sedative effects. *Anesthesiology*. 2003 Feb;98(2):428–36.
  30. Reves JG, Glass PSA, Lubarsky DA, McEvoy MD. İntravenöz Opioid Olmayan Anestezikler. 6th ed. Miller RD, editor. *Miller anestezi*. izmir güven kitapevi; 2010. 355–359 p.
  31. Maccioli GA. Dexmedetomidine to Facilitate Drug Withdrawal. *Anesthesiology*. 2003 Feb 1;98(2):575–7.

32. Ebert TJ, Hall JE, Barney JA, Uhrich TD, Colinco MD. The Effects of Increasing Plasma Concentrations of Dexmedetomidine in Humans. *Anesthesiology*. 2000 Aug 1;93(2):382–94.
33. Karhuvaara S, Kallio A, Salonen M, Tuominen J, Scheinin M. Rapid reversal of alpha 2-adrenoceptor agonist effects by atipamezole in human volunteers. *Br J Clin Pharmacol*. 1991 Feb;31(2):160–5.
34. Scheinin H, Aantaa R, Anttila M, Hakola P, Helminen A, Karhuvaara S. Reversal of the sedative and sympatholytic effects of dexmedetomidine with a specific alpha2-adrenoceptor antagonist atipamezole: a pharmacodynamic and kinetic study in healthy volunteers. *Anesthesiology*. 1998 Sep;89(3):574–84.
35. Ishii H, Kohno T, Yamakura T, Ikoma M, Baba H. Action of dexmedetomidine on the substantia gelatinosa neurons of the rat spinal cord. *Eur J Neurosci*. 2008/06/01. 2008 Jun;27(12):3182–90.
36. Kauppila T, Kemppainen P, Tanila H, Pertovaara A. Effect of systemic medetomidine, an alpha 2 adrenoceptor agonist, on experimental pain in humans. *Anesthesiology*. 1991 Jan;74(1):3–8.
37. McCutcheon CA, Orme RM, Scott DA, Davies MJ, McGlade DP. A comparison of dexmedetomidine versus conventional therapy for sedation and hemodynamic control during carotid endarterectomy performed under regional anesthesia. *Anesth Analg*. 2006 Mar;102(3):668–75.
38. Venn RM, Bradshaw CJ, Spencer R, Brealey D, Caudwell E, Naughton C, et al. Preliminary UK experience of dexmedetomidine, a novel agent for postoperative sedation in the intensive care unit. *Anaesthesia*. 1999 Dec;54(12):1136–42.
39. Aantaa R, Kanto J, Scheinin M, Kallio A, Scheinin H. Dexmedetomidine, an alpha 2-adrenoceptor agonist, reduces anesthetic requirements for patients undergoing minor gynecologic surgery. *Anesthesiology*. 1990 Aug;73(2):230–5.
40. Lodenius Å, Ebberyd A, Hårdemark Cedborg A, Hagel E, Mkrtchian S, Christensson E, et al. Sedation with Dexmedetomidine or Propofol Impairs Hypoxic Control of Breathing in Healthy Male Volunteers: A Nonblinded,

- Randomized Crossover Study. *Anesthesiology*. 2016 Oct;125(4):700–15.
41. Abdallah FW, Dwyer T, Chan VWS, Niazi AU, Ogilvie-Harris DJ, Oldfield S, et al. IV and Perineural Dexmedetomidine Similarly Prolong the Duration of Analgesia after Interscalene Brachial Plexus Block: A Randomized, Three-arm, Triple-masked, Placebo-controlled Trial. *Anesthesiology*. 2016 Mar;124(3):683–95.
  42. Kronenberg RS, Drage CW. Attenuation of the ventilatory and heart rate responses to hypoxia and hypercapnia with aging in normal men. *J Clin Invest*. 1973 Aug;52(8):1812–9.
  43. Bloor BC, Ward DS, Belleville JP, Maze M. Effects of intravenous dexmedetomidine in humans. II. Hemodynamic changes. *Anesthesiology*. 1992 Dec;77(6):1134–42.
  44. Riker RR, Fraser GL. Adverse events associated with sedatives, analgesics, and other drugs that provide patient comfort in the intensive care unit. *Pharmacotherapy*. 2005 May;25(5 Pt 2):8S-18S.
  45. Venn M, Newman J, Grounds M. A phase II study to evaluate the efficacy of dexmedetomidine for sedation in the medical intensive care unit. *Intensive Care Med*. 2003 Feb;29(2):201–7.
  46. Jalonen J, Hynynen M, Kuitunen A, Heikkilä H, Perttilä J, Salmenperä M, et al. Dexmedetomidine as an anesthetic adjunct in coronary artery bypass grafting. *Anesthesiology*. 1997 Feb;86(2):331–45.
  47. Talke P, Li J, Jain U, Leung J, Drasner K, Hollenberg M, et al. Effects of perioperative dexmedetomidine infusion in patients undergoing vascular surgery. The Study of Perioperative Ischemia Research Group. *Anesthesiology*. 1995 Mar;82(3):620–33.
  48. Maroof M, Khan RM, Jain D, Ashraf M. Dexmedetomidine is a useful adjunct for awake intubation. Vol. 52, *Canadian journal of anaesthesia = Journal canadien d'anesthésie*. United States; 2005. p. 776–7.
  49. Candiotti KA, Bergese SD, Bokesch PM, Feldman MA, Wisemandle W, Bekker AY. Monitored anesthesia care with dexmedetomidine: a prospective,

- randomized, double-blind, multicenter trial. *Anesth Analg*. 2010 Jan;110(1):47–56.
50. Bergese SD, Candiotti KA, Bokesch PM, Zura A, Wisemandle W, Bekker AY. A Phase IIIb, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter study evaluating the safety and efficacy of dexmedetomidine for sedation during awake fiberoptic intubation. *Am J Ther*. 2010;17(6):586–95.
  51. Talke P, Stapelfeldt C, Garcia P. Dexmedetomidine does not reduce epileptiform discharges in adults with epilepsy. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2007 Jul;19(3):195–9.
  52. Ramsay MAE, Luterman DL. Dexmedetomidine as a total intravenous anesthetic agent. *Anesthesiology*. 2004 Sep;101(3):787–90.
  53. Chevrolet J-C, Jolliet P. Clinical review: agitation and delirium in the critically ill--significance and management. *Crit Care*. 2007;11(3):214.
  54. Marino PL. *The ICU Book*. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkin/ Wolters Kluwer Health; 2014.
  55. Barlow DH. *Anxiety and Its Disorders: The Nature and Treatment of Anxiety and Panic*. 2nd ed. The Guilford Press; 2004.
  56. An K, De Jong MJ, Riegel BJ, McKinley S, Garvin BJ, Doering L V, et al. A cross-sectional examination of changes in anxiety early after acute myocardial infarction. *Heart Lung*. 2004;33(2):75–82.
  57. Richard S. Irwin JMR. *Irwin and Rippe's Intensive Care* 2014. 6th ed. Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
  58. Ely EW, Inouye SK, Bernard GR, Gordon S, Francis J, May L, et al. Delirium in mechanically ventilated patients: validity and reliability of the confusion assessment method for the intensive care unit (CAM-ICU). *JAMA*. 2001 Dec;286(21):2703–10.
  59. Riker RR, Shehabi Y, Bokesch PM, Ceraso D, Wisemandle W, Koura F, et al. Dexmedetomidine vs midazolam for sedation of critically ill patients: a randomized trial. *JAMA*. 2009 Feb;301(5):489–99.

60. Jakob SM, Ruokonen E, Grounds RM, Sarapohja T, Garratt C, Pocock SJ, et al. Dexmedetomidine vs midazolam or propofol for sedation during prolonged mechanical ventilation: two randomized controlled trials. *JAMA*. 2012 Mar;307(11):1151–60.
61. Chen K, Lu Z, Xin YC, Cai Y, Chen Y, Pan SM. Alpha-2 agonists for long-term sedation during mechanical ventilation in critically ill patients. *Cochrane database Syst Rev*. 2015 Jan;1(1):CD010269.
62. Maldonado JR, Wysong A, van der Starre PJA, Block T, Miller C, Reitz BA. Dexmedetomidine and the reduction of postoperative delirium after cardiac surgery. *Psychosomatics*. 2009;50(3):206–17.
63. Pandharipande PP, Pun BT, Herr DL, Maze M, Girard TD, Miller RR, et al. Effect of sedation with dexmedetomidine vs lorazepam on acute brain dysfunction in mechanically ventilated patients: the MENDS randomized controlled trial. *JAMA*. 2007 Dec;298(22):2644–53.
64. Lin Y, Chen J, Wang Z. Meta-analysis of factors which influence delirium following cardiac surgery. *J Card Surg*. 2012 Jul;27(4):481–92.
65. Sheta SA, Al-Sarheed MA, Abdelhalim AA. Intranasal dexmedetomidine vs midazolam for premedication in children undergoing complete dental rehabilitation: a double-blinded randomized controlled trial. *Paediatr Anaesth*. 2014 Feb;24(2):181–9.
66. Surendar MN, Pandey RK, Saksena AK, Kumar R, Chandra G. A comparative evaluation of intranasal dexmedetomidine, midazolam and ketamine for their sedative and analgesic properties: a triple blind randomized study. *J Clin Pediatr Dent*. 2014;38(3):255–61.
67. Wang S-S, Zhang M-Z, Sun Y, Wu C, Xu W-Y, Bai J, et al. The sedative effects and the attenuation of cardiovascular and arousal responses during anesthesia induction and intubation in pediatric patients: a randomized comparison between two different doses of preoperative intranasal dexmedetomidine. *Paediatr Anaesth*. 2014 Mar;24(3):275–81.
68. Yao Y, Qian B, Lin Y, Wu W, Ye H, Chen Y. Intranasal dexmedetomidine premedication reduces minimum alveolar concentration of sevoflurane for

- laryngeal mask airway insertion and emergence delirium in children: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Paediatr Anaesth*. 2015 May;25(5):492–8.
69. Yao Y, Qian B, Chen Y, Zhou L, Liu J. Intranasal dexmedetomidine premedication reduces the minimum alveolar concentration of sevoflurane for tracheal intubation in children: a randomized trial. *J Clin Anesth*. 2014 Jun;26(4):309–14.
70. Xiang Q, Huang DY, Zhao YL, Wang GH, Liu YX, Zhong L, et al. Caudal dexmedetomidine combined with bupivacaine inhibit the response to hernial sac traction in children undergoing inguinal hernia repair. *Br J Anaesth*. 2013;110(3):420–4.
71. Abdallah FW, Abrishami A, Brull R. The facilitatory effects of intravenous dexmedetomidine on the duration of spinal anesthesia: a systematic review and meta-analysis. *Anesth Analg*. 2013 Jul;117(1):271–8.
72. Marhofer D, Kettner SC, Marhofer P, Pils S, Weber M, Zeitlinger M. Dexmedetomidine as an adjuvant to ropivacaine prolongs peripheral nerve block: a volunteer study. *Br J Anaesth*. 2013 Mar;110(3):438–42.
73. Gu J, Sun P, Zhao H, Watts HR, Sanders RD, Terrando N, et al. Dexmedetomidine provides renoprotection against ischemia-reperfusion injury in mice. *Crit Care*. 2011 Jun;15(3):R153.
74. Lempiäinen J, Finckenberg P, Mervaala EE, Storvik M, Kaivola J, Lindstedt K, et al. Dexmedetomidine preconditioning ameliorates kidney ischemia-reperfusion injury. *Pharmacol Res Perspect*. 2014 Jun;2(3):e00045.
75. Dahmani S, Paris A, Jannier V, Hein L, Rouelle D, Scholz J, et al. Dexmedetomidine increases hippocampal phosphorylated extracellular signal-regulated protein kinase 1 and 2 content by an alpha 2-adrenoceptor-independent mechanism: evidence for the involvement of imidazoline I1 receptors. *Anesthesiology*. 2008 Mar;108(3):457–66.
76. Zhu Y-M, Wang C-C, Chen L, Qian L-B, Ma L-L, Yu J, et al. Both PI3K/Akt and ERK1/2 pathways participate in the protection by dexmedetomidine against transient focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. *Brain Res*.

2013 Feb;1494:1–8.

77. Riquelme JA, Westermeier F, Hall AR, Vicencio JM, Pedrozo Z, Ibacache M, et al. Dexmedetomidine protects the heart against ischemia-reperfusion injury by an endothelial eNOS/NO dependent mechanism. *Pharmacol Res.* 2016 Jan;103:318–27.
78. Sanders RD, Xu J, Shu Y, Januszewski A, Halder S, Fidalgo A, et al. Dexmedetomidine attenuates isoflurane-induced neurocognitive impairment in neonatal rats. *Anesthesiology.* 2009 May;110(5):1077–85.
79. Sanders RD, Xu J, Shu Y, Fidalgo A, Ma D, Maze M. General anesthetics induce apoptotic neurodegeneration in the neonatal rat spinal cord. *Anesth Analg.* 2008 Jun;106(6):1708–11.
80. Talke P, Bickler PE. Effects of dexmedetomidine on hypoxia-evoked glutamate release and glutamate receptor activity in hippocampal slices. *Anesthesiology.* 1996 Sep;85(3):551–7.
81. Engelhard K, Werner C, Eberspächer E, Bachl M, Blobner M, Hildt E, et al. The effect of the alpha 2-agonist dexmedetomidine and the N-methyl-D-aspartate antagonist S(+)-ketamine on the expression of apoptosis-regulating proteins after incomplete cerebral ischemia and reperfusion in rats. *Anesth Analg.* 2003 Feb;96(2):524–31
82. Gao Q, Horvath T. Hypothalamus BT - Encyclopedia of Neuroscience. In: Binder MD, Hirokawa N, Windhorst U, editors. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2009. p. 1895–900
83. Ogoina D. Fever, fever patterns and diseases called 'fever'--a review. *J Infect Public Health.* 2011 Aug;4(3):108–24.
84. Blatteis CM. The onset of fever: new insights into its mechanism. *Prog Brain Res.* 2007;162:3–14.
85. Hopkins SJ. Central nervous system recognition of peripheral inflammation: a neural, hormonal collaboration. Vol. 78 Suppl 1, *Acta bio-medica: Atenei Parmensis.* Italy; 2007. p. 231–47.
86. Roth J, De Souza GE. Fever induction pathways: evidence from responses to



- systemic or local cytokine formation. *Brazilian J Med Biol Res = Rev Bras Pesqui medicas e Biol.* 2001 Mar;34(3):301–14.
87. Leon LR. Invited review: cytokine regulation of fever: studies using gene knockout mice. *J Appl Physiol.* 2002 Jun;92(6):2648–55.
  88. Netea MG, Kullberg BJ, Van der Meer JW. Circulating cytokines as mediators of fever. *Clin Infect Dis an Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2000 Oct;31 Suppl 5:S178-84.
  89. Boulant JA. Role of the Preoptic-Anterior Hypothalamus in Thermoregulation and Fever. *Clin Infect Dis.* 2000 Oct 1;31:S157–61.
  90. Turrin NP, Rivest S. Unraveling the Molecular Details Involved in the Intimate Link between the Immune and Neuroendocrine Systems. *Exp Biol Med.* 2004;229(10):996–1006.
  91. Romanovsky AA, Steiner AA, Matsumura K. Cells that trigger fever. *Cell Cycle.* 2006 Oct;5(19):2195–7.
  92. Steiner AA, Chakravarty S, Rudaya AY, Herkenham M, Romanovsky AA. Bacterial lipopolysaccharide fever is initiated via Toll-like receptor 4 on hematopoietic cells. *Blood.* 2006 May;107(10):4000–2.
  93. Gross L. Anatomy of a Fever. *PLoS Biol.* 2006 Sep;4(9):e305.
  94. Steiner AA, Ivanov AI, Serrats J, Hosokawa H, Phayre AN, Robbins JR, et al. Cellular and molecular bases of the initiation of fever. *PLoS Biol.* 2006 Sep;4(9):e284.
  95. Stanley R, Pagon Z, Bachur R. Hyperpyrexia Among Infants Younger Than 3 Months. *Pediatr Emerg Care.* 2005;21(5).
  96. Charles D, Porat Reuven. Pathophysiology and treatment of fever in adults [Internet]. Uptodate. 2021. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/pathophysiology-and-treatment-of-fever-in-adults>
  97. Mechan AO, Esteban B, O’Shea E, Elliott JM, Colado MI, Green AR. The pharmacology of the acute hyperthermic response that follows administration

- of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, 'ecstasy') to rats. *Br J Pharmacol*. 2002 Jan;135(1):170–80.
98. Laupland KB, Shahpori R, Kirkpatrick AW, Ross T, Gregson DB, Stelfox HT. Occurrence and outcome of fever in critically ill adults. *Crit Care Med*. 2008 May;36(5):1531–5.
99. Kaul DR, Flanders SA, Beck JM, Saint S. Brief report: incidence, etiology, risk factors, and outcome of hospital-acquired fever: a systematic, evidence-based review. *J Gen Intern Med [Internet]*. 2006 Nov;21(11):1184–7.
100. Lee BH, Inui D, Suh GY, Kim JY, Kwon JY, Park J, et al. Association of body temperature and antipyretic treatments with mortality of critically ill patients with and without sepsis: multi-centered prospective observational study. *Crit Care*. 2012 Feb;16(1):R33.
101. Walter E, Carraretto M. Drug-induced hyperthermia in critical care. *J Intensive Care Soc*. 2015/04/22. 2015 Nov;16(4):306–11.
102. Rehman T, deBoisblanc BP. Persistent fever in the ICU. *Chest*. 2014 Jan;145(1):158–65.
103. Mackowiak PA. Southwestern Internal Medicine Conference: Drug Fever: Mechanisms, Maxims and Misconceptions. *Am J Med Sci*. 1987;294(4):275–86.
104. Denborough M. Malignant hyperthermia. *Lancet (London, England)*. 1998 Oct;352(9134):1131–6.
105. Patel RA, Gallagher JC. Drug fever. *Pharmacotherapy*. 2010 Jan;30(1):57–69.
106. Harding A, Heine A, Gerlach A. 1318: Dexmedetomidine Induced Hyperthermia. *Crit Care Med*. 2013;41(12).
107. Czepiel KS, Lucas AT, Whalen MJ, Mojica JE. Dexmedetomidine-Associated Hyperpyrexia in Three Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019. Vol. 2, *Critical care explorations*. 2020. p. e0213.
108. Faust AC, Sutton SE. Dexmedetomidine-associated fever in the intensive care unit. *Ther Adv drug Saf [Internet]*. 2015 Dec;6(6):234–7.

109. Lähdesmäki J, Sallinen J, MacDonald E, Sirviö J, Scheinin M. Alpha2-adrenergic drug effects on brain monoamines, locomotion, and body temperature are largely abolished in mice lacking the alpha2A-adrenoceptor subtype. *Neuropharmacology*. 2003 Jun;44(7):882–92.
110. William S Klug, Michael R Cummings CAS. *Genetik Kavramlar*. 11th ed. Ankara: Palme yayınevi; 2018. 283–313 p.
111. Liebler CD. *Introduction to Proteomics Tools for the New Biology*. Humana press; 2002. 25 p.
112. Books A, Green ED, Watson JD, Collins FS. Twenty-five years of big biology. *Nature*. 2015;526:29–31.
113. Chapman K. The ProteinChip® Biomarker System from CIPHERGEN Biosystems: a novel proteomics platform for rapid biomarker discovery and validation. *Biochem Soc Trans*. 2002 Apr 1;30(2):82–7.
114. Domon B, Aebersold R. *Mass Spectrometry and Protein Analysis*. 2012;312(2006):212–7.
115. Vaudel M, Sickmann A, Martens L. Peptide and protein quantification: A map of the minefield. *Proteomics*. 2010;10(4):650–670.
116. Freeman WM, Hemby SE. Proteomics for Protein Expression Profiling in Neuroscience. *Neurochem Res*. 2004;29(6):1065–81.
117. Aslam B, Basit M, Nisar MA, Khurshid M, Rasool MH. Proteomics: Technologies and their applications. *J Chromatogr Sci*. 2017;55(2):182–96.
118. Potriquet J, Laohaviroj M, Bethony JM, Mulvenna J. A modified FASP protocol for high-throughput preparation of protein samples for mass spectrometry. *PLoS One*. 2017 Jul 27;12(7):e0175967–e0175967.
119. Hoffmann E. *Mass Spectrometry Principles and Applications*. 4th ed. 2007.
120. Allen DR, McWhinney BC. *Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry: A Paradigm Shift in Toxicology Screening Applications*. *Clin Biochem Rev*. 2019 Aug;40(3):135–46.
121. Eser B, Sepici Dınçel A. *Kromatografiye Giriş, Yüksek Performanslı Sıvı*

- Kromatografi Kullanımında Basit İpuçları. Vol. 2, Journal of Health Services and Education.Marmara Üniversitesi; 2018. p. 51–7.
122. Jünemann S, Kleinbölting N, Jaenicke S, Henke C, Hassa J, Nelkner J, et al. Bioinformatics for NGS-based metagenomics and the application to biogas research. *J Biotechnol.* 2017 Nov;261:10–23.
  123. Kanehisa M, Goto S, Sato Y, Furumichi M, Tanabe M. KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular data sets. *Nucleic Acids Res.* 2012 Jan;40 :D109-14.
  124. Subramanian A, Tamayo P, Mootha VK, Mukherjee S, Ebert BL, Gillette MA, et al. Gene set enrichment analysis: A knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proc Natl Acad Sci.* 2005 Oct 25;102(43):15545 LP – 15550.
  125. Haberkorn U, Altmann A, Eisenhut M. Functional genomics and proteomics - The role of nuclear medicine. *Eur J Nucl Med.* 2002;29(1):115–32.
  126. Zhang H, Ye J, Shi Z, Bu C, Bao F. Quantitative analyses of the global proteome and phosphoproteome reveal the different impacts of propofol and dexmedetomidine on HT22 cells. *Sci Rep.* 2017 Apr 18;7:46455.
  127. Pan JZ, Xi J, Tobias JW, Eckenhoff MF, Eckenhoff RG. Halothane Binding Proteome in Human Brain Cortex. *J Proteome Res.* 2007 Feb 1;6(2):582–92.
  128. Tan X, Tu Z, Han W, Song X, Cheng L, Chen H, et al. Anticonvulsant and Neuroprotective Effects of Dexmedetomidine on Pilocarpine-Induced Status Epilepticus in Rats Using a Metabolomics Approach. *Med Sci Monit.* 2019 Mar 20;25:2066–78.
  129. Tang J, Xue Q, Ding H, Qin Z, Xiao J, Lin C, et al. Proteomic profiling of the phosphoproteins in the rat thalamus, hippocampus and frontal lobe after propofol anesthesia. *BMC Anesthesiol.* 2014 Jan 10;14:3.
  130. Ji M, Qiu L, Mao M-J, Zhang L, Yang J. Hippocampal complement C3 might contribute to cognitive impairment induced by anesthesia and surgery. *Neuroreport*]. 2020;31(7).
  131. Zhang X, Yang S, Yue Y, Wu A. Profiling of the Soluble Proteome in Rat

- Hippocampus Post Propofol Anesthesia. *Neurochem Res.* 2013;38(12):2661–7.
132. Ma J, Williams J, Eastwood D, Lin S, Qian X, Fang Q, et al. High-dose Propofol Anesthesia Reduces the Occurrence of Postoperative Cognitive Dysfunction via Maintaining Cytoskeleton. *Neuroscience.* 2019;421:136–43.
  133. Oras J, Redfors B, Ali A, Lundgren J, Sihlbom C, Thorsell A, et al. Anaesthetic-induced cardioprotection in an experimental model of the Takotsubo syndrome - isoflurane vs. propofol. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2017 Mar;61(3):309–21.
  134. STIP 1 [Internet]. string data base. 2021. Available from: <https://string-db.org/cgi/network?taskId=bAZsaZeZB>
  135. Didelot C, Schmitt E, Brunet M, Maingret L, Parcellier A, Garrido C. Heat Shock Proteins: Endogenous Modulators of Apoptotic Cell Death. In: *Molecular Chaperones in Health and Disease.* Berlin/Heidelberg, Germany: Springer-Verlag; 2006. p. 171–98.
  136. Multhoff G. Heat shock protein 70 (Hsp70): membrane location, export and immunological relevance. *Methods.* 2007 Nov;43(3):229–37.
  137. Neckers L, Ivy SP. Heat shock protein 90. *Curr Opin Oncol.* 2003 Nov;15(6):419–24.
  138. Garrido C, Gurbuxani S, Ravagnan L, Kroemer G. Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001 Aug;286(3):433–42.
  139. String data base [Internet]. 2021. Available from: <https://string-db.org/cgi/network?taskId=bdKhS72YRTTE&sessionId=bmt5n6POu4xB>
  140. KEGG. proteosom pathway [Internet]. 2021. Available from: [https://www.kegg.jp/dbget-bin/www\\_bget?pathway+map05022](https://www.kegg.jp/dbget-bin/www_bget?pathway+map05022)
  141. Tan X, Tu Z, Han W, Song X, Cheng L, Chen H, et al. Anticonvulsant and neuroprotective effects of dexmedetomidine on pilocarpine-induced status epilepticus in rats using a metabolomics approach. *Med Sci Monit.* 2019;25:2066–78.

142. Peng J, Zhang P, Zheng H, Ren Y-Q, Yan H. Dexmedetomidine reduces hippocampal microglia inflammatory response induced by surgical injury through inhibiting NLRP3. *Chinese J Traumatol = Zhonghua chuang shang za zhi*. 2019/04/13. 2019 Jun;22(3):161–5.
143. Jang M, Jung T, Kim S-H, Noh J. Sex differential effect of dexmedetomidine on fear memory extinction and anxiety behavior in adolescent rats. *Neurosci Res*. 2019 Dec;149:29–37.
144. Jin S, Liang DD, Chen C, Zhang M, Wang J. Dexmedetomidine prevent postoperative nausea and vomiting on patients during general anesthesia. *Medicine (Baltimore)*. 2017;0(December 2016):1–7.
145. Asai T, Mapleson WW, Power I. Interactive effect of morphine and dexmedetomidine on gastric emptying and gastrointestinal transit in the rat. *Br J Anaesth*. 1998;80(1):63—67.
146. Butterworth JF, Mackey DC WJ. Thermoregulation, Hypothermia, Malignant Hyperthermia. In: Butterworth JF, Mackey DC WJ, editor. *Morgan & Mikhail's Clinical Anesthesiology*. 6 th. McGraw-Hill Education; 2015. p. 2074.
147. Maurer R, Woolley D. Distribution of H-estradiol in Clomiphene-Treated and Neonatally Androgenized Rats 1. *Endocrinology*. 1971;88(6):1281–7.
148. Firmino M, Weis SN, Souza JMF, Gomes BRB, Mól AR, Mortari MR, et al. Label-free quantitative proteomics of rat hypothalamus under fever induced by LPS and PGE2. *J Proteomics*. 2018;187(April 2018):182–99.
149. Sayers P. Generating a detailed protein profile of *Fasciola hepatica* during the chronic stage of infection in cattle. 2014;1519–30.
150. Serhatli M, Baysal K, Acilan C, Tuncer E, Bekpinar S, Baykal AT. Proteomic Study of the Microdissected Aortic Media in Human Thoracic Aortic Aneurysms. 2014;
151. Beker MC, Caglayan B, Yalcin E. Time-of-Day Dependent Neuronal Injury After Ischemic Stroke : Implication of Circadian Clock Transcriptional Factor Bmal1 and Survival Kinase AKT. 2018;2565–76.

152. Yalcin E, Beker MC, Turkseven S, Caglayan B, Gurel B, Kilic U, et al. Evidence that melatonin downregulates Nedd4-1 E3 ligase and its role in cellular survival. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2019;379:114686.
153. Walter EJ, Hanna-Jumma S, Carraretto M, Forni L. The pathophysiological basis and consequences of fever. *Crit Care*. 2016 Jul;20(1):200.
154. Mustafa S, Elgazzar AH, Essam H, Gopinath S, Mathew M. Hyperthermia alters kidney function and renal scintigraphy. *Am J Nephrol*. 2007;27(3):315–21.
155. O’Grady NP, Barie PS, Bartlett JG, Bleck T, Carroll K, Kalil AC, et al. Guidelines for evaluation of new fever in critically ill adult patients: 2008 update from the American College of Critical Care Medicine and the Infectious Diseases Society of America. *Crit Care Med*. 2008 Apr;36(4):1330–49.
156. Faust AC, Sutton SE. Dexmedetomidine-associated fever in the intensive care unit. *Ther Adv Drug Saf*. 2015;6(6):234–7.
157. Madden CJ, Tupone D, Cano G, Morrison SF. A2 Adrenergic Receptor-Mediated Inhibition of Thermogenesis. *J Neurosci*. 2013;33(5):2017–28.
158. Lane-Petter W. Cannibalism in rats and mice. *Proc R Soc Med*. 1968 Dec;61(12):1295–6.
159. Qiu G, Wu Y, Yang Z, Li L, Zhu X, Wang Y, et al. Dexmedetomidine Activation of Dopamine Neurons in the Ventral Tegmental Area Attenuates the Depth of Sedation in Mice. *Anesthesiology*. 2020 Aug;133(2):377–92.
160. Kültz D. Molecular and evolutionary basis of the cellular stress response. *Annu Rev Physiol*. 2005;67:225–57.
161. Cellular response of external stimuli pathway [Internet]. Reactome. Available from: <https://reactome.org/content/detail/R-HSA-8953897>
162. Hildebrandt B, Wust P, Ahlers O, Dieing A, Sreenivasa G, Kerner T, et al. The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2002;43(1):33–56.

163. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol*. 2003 Oct;552(Pt 2):335–44.
164. Noh H, Jeon J, Seo H. Systemic injection of LPS induces region-specific neuroinflammation and mitochondrial dysfunction in normal mouse brain. *Neurochem Int*. 2014;69:35–40.
165. Song Y, Pinniger GJ, Bakker AJ, Moss TJM, Noble PB, Berry CA, et al. Lipopolysaccharide-Induced Weakness in the Preterm Diaphragm Is Associated with Mitochondrial Electron Transport Chain Dysfunction and Oxidative Stress. *PLoS One*. 2013 Sep 6;8(9):e73457.
166. Yu X, Chi X, Wu S, Jin Y, Yao H, Wang Y, et al. Dexmedetomidine Pretreatment Attenuates Kidney Injury and Oxidative Stress during Orthotopic Autologous Liver Transplantation in Rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2015/11/22. 2016;2016:4675817.
167. Ueki M, Kawasaki T, Habe K, Hamada K, Kawasaki C, Sata T. The effects of dexmedetomidine on inflammatory mediators after cardiopulmonary bypass. *Anaesthesia*. 2014 Jul;69(7):693–700.
168. Li F, Wang X, Deng Z, Zhang X, Gao P, Liu H. Dexmedetomidine reduces oxidative stress and provides neuroprotection in a model of traumatic brain injury via the PGC-1 $\alpha$  signaling pathway. *Neuropeptides*. 2018 Dec;72:58–64.
169. Uniprot. Fatty acid synthase [Internet]. 2021. Available from: <https://www.uniprot.org/uniprot/P49327#function>



## 8. EK TABLOLAR

**Tablo 13. ‘G-Alfa I Sinyalizasyon yolağında down regüle proteinler**

	Protein	Erişim numarası	P değeri	Kat değişimi
1	cAMP-dependent protein kinase type II-alpha regulatory subunit	P12368	0,05	1,07
2	Apolipoprotein E	P02650	0,09	1,06
3	Guanine nucleotide-binding protein subunit gamma	G3V6P8	0,10	1,10
4	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase	F1LUE2	0,12	1,07
5	cAMP-dependent protein kinase type I-alpha regulatory subunit	P09456	0,14	1,04
6	1-phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate phosphodiesterase beta-1	P10687	0,15	1,09
7	Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-1	P10824	0,16	1,06
8	Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha	P59215	0,22	1,04
9	Serine/threonine-protein phosphatase 2B catalytic subunit alpha isoform	P63329	0,24	1,06
10	Serine/threonine-protein phosphatase 2B catalytic subunit beta isoform	P20651	0,29	1,04
11	cAMP-dependent protein kinase type II-beta regulatory subunit	P12369	0,30	1,05
12	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II subunit alpha	P11275	0,35	1,04
13	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-2	P54313	0,39	1,01
14	Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-2	P04897	0,39	1,03
15	Protein phosphatase 2 (Formerly 2A), regulatory subunit A (PR 65), alpha isoform, isoform CRA_a	Q5XI34	0,40	1,02

**Tablo 14. İnsulin Sekresyon Regülasyon yolağında down regüle proteinler**

Protein	Erişim numarası	Kat değişimi	P değeri
1 Syntaxin-1A	P32851	1,15	0,44
2 Syntaxin-binding protein 1	P61765	1,10	0,11
3 Synaptosomal-associated protein 25	P60881	1,15	0,17

**Tablo 15. İyon kanal Transport yolağında down regüle proteinler**

Protein	Erişim numarası	Kat değişimi	P değeri
1 Protein tweety homolog 1	P0C5X8	1,08	0,001
2 Ubiquitin-60S ribosomal protein L40	F1LML2	1,11	0,001
3 V-type proton ATPase subunit F	P50408	1,15	0,01
4 FXFD domain-containing ion transport regulator 6	Q91XV6	1,21	0,01
5 LOC683667 protein	B0BNJ1	1,12	0,07
6 V-type proton ATPase subunit B, brain isoform	D3ZZS8	1,06	0,10
7 Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-1	P07340	1,09	0,12
8 Plasma membrane calcium-transporting ATPase 4	Q64542	1,03	0,16
9 V-type proton ATPase subunit C 1	Q5FVI6	1,08	0,21
10 Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-1	P06685	1,06	0,22

**Tablo 16. GPCR ile Sinyal, Demir Alımı ve Transport, Reseptör Tirozin Kinazlarla Sinyal yollarında down regüle proteinler**

	Protein	Erişim numarası	Kat değişimi	P değeri
Signaling By GPCR	Rho guanine nucleotide exchange factor 11	F1LQS9	1,11	0,25
	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-13	Q6Q7Y5	1,10	0,40
Iron Uptake And Transport	Rho family-interacting cell polarization regulator 2	P02793	1,13	0,19
	V-type proton ATPase subunit H	A0A0G2 K9J2	1,04	0,27
	H(+)-transporting two-sector ATPase	D4A133	1,13	0,30
Signaling By Receptor Tyrosine Kinases	Stathmin	P13668	1,12	0,02
	Cytoplasmic FMR1-interacting protein	D4A8H8	1,13	0,07
	Dynamin-1	P21575	1,07	0,14
	Endophilin-A2	O35964	1,16	0,15
	Endophilin-A1	O35179	1,14	0,15
	Ras-related protein Ral-A	F1LQ62	1,04	0,21

**Tablo 17. Nörotransmitter Reseptörleri ve Postsinaptik Sinyal İletimi, Oksidatif Fosforilasyon, Kimyasal Sinapslar Üzerinden İletim, Nöronal Sistem yollarında down regüle proteinler**

	Protein	Erişim numarası	Kat değişimi	P değeri
<b>Neurotransmitter Receptors And Postsynaptic Signal Transmission</b>	Microtubule-associated protein	F1LST4	1,12	0,01
	Band 4.1-like protein 1	A0A0G2K0F3	1,10	0,06
<b>Oxidative Phosphorylation</b>	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 2	D3ZS58	1,07	0,007
	Cytochrome b-c1 complex subunit 2, mitochondrial	P32551	1,05	0,02
	Cytochrome b-c1 complex subunit 7	B2RYS2	1,09	0,06
	Complex I-9kD	G3V644	1,43	0,07
	ATP synthase-coupling factor 6, mitochondrial	P21571	1,09	0,15
	Cytochrome c oxidase subunit 7A2-like	D3ZYG8	1,05	0,16
	Cytochrome c oxidase subunit 7A2, mitochondrial	P35171	1,04	0,17
	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 5	Q63362	1,04	0,23
	Complex I-B22	B2RYW3	1,08	0,26
	Acyl carrier protein	D3ZF13	1,05	0,27
	NADH-ubiquinone oxidoreductase 75 kDa subunit, mitochondrial	Q66HF1	1,02	0,28
	Cytochrome c oxidase subunit	D3ZD09	1,05	0,30

	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 2, mitochondrial	Q641Y2	1,04	0,34
	Sodium/potassium-transporting subunit alpha	G3V8S4	1,03	0,36
	Complex I-B14.5a	A9UMV9	1,09	0,38
<b>Transmission</b>	Synapsin-1	P09951	1,08	0,04
<b>Across Chemical Synapses</b>	Glutamine synthetase	P09606	1,11	0,08
	Synaptotagmin-1	P21707	1,04	0,20
<b>Neuronal System</b>	Flotillin-1	Q9Z1E1	1,10	0,10

**Tablo 18. Küçük molekül transport yolağında down regüle olan proteinler**

	Protein	Erişim numarası	Kat değışimi	P değeri
1	Proteasome subunit alpha type	A0A0G2K0W9	1,09	0,06
2	Aquaporin-4	P47863	1,46	0,14
	Solute carrier family 12 member 5	D3ZGI9	1,07	0,19
3	Mitochondrial glutamate carrier 1-like	A0A0G2K5L2	1,08	0,21
4	Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 3	Q07647	1,07	0,23
5	Prohibitin	P67779	1,03	0,26
6	CDW92 antigen, isoform CRA_a	A0A0G2K7R8	1,08	0,26
7	Sodium- and chloride-dependent GABA transporter 3	P31647	1,04	0,27
8	Carbonic anhydrase 2	P27139	1,05	0,29
9	Clathrin light chain	A0A0G2JYW3	1,05	0,33
10	Alpha-adducin	Q63028	1,03	0,34
11	Proteasome subunit alpha type-5	P34064	1,07	0,37
12	Sodium/calcium exchanger 2	A0A0G2JZK7	1,09	0,37

13	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-3	Q63377	1,07	0,38
14	26S proteasome regulatory subunit 6A	Q63569	1,05	0,39
15	Prohibitin-2	Q5XIH7	1,03	0,39
16	Proteasome subunit alpha type	A0A0G2K0W9	1,09	0,06

