T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

Tez Yöneticisi
Yrd. Doç. Dr. Serchat CHOUSEIN

ALT EKSTREMİTENİN DENEYSEL İSKEMİ/REPERFÜZYON MODELİNDE GELİŞEN REPERFÜZYONA BAĞLI BÖBREK HASARINA PAPAVERİN VE VİTAMİN C (ASKORBİK ASİD)'NİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Kadir ARSLAN

EDİRNE – 2012

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince mesleki bilgi ve deneyimimi arttırmamda büyük destek ve yardımlarını gördüğüm, bana cerrahi sanatını öğreten değerli hocam Trakya Üniversitesi Rektörü sayın Prof. Dr. Enver DURAN'a, öğretim üyelerim sayın Prof. Dr. Mutasım SÜNGÜN, Prof. Dr. Murat DİKMENGİL, Prof. Dr. Turan EGE, Prof. Dr. Suat CANBAZ'a, tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Serhat HÜSEYİN ve Yrd. Doç. Dr. Volkan YÜKSEL'e, Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Yrd. Doç. Dr. Tülin YALTA'ya, değerli asistan arkadaşlarım ve tüm sağlık personeline teşekkür eder, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

- **İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI** 3
- **İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI MEKANİZMASI** 8
- **DAMAR CERRAHİSİNDE İSKEMİ REPERFÜZYON** 13
- **RADİKALLERE KARŞI SAVUNMA SİSTEMLERİ** 14
- **BÖBREĞİN YAPI VE FONKSİYONLARI** 16
- **VİTAMİN C (ASKORBİK ASİT)** 18
- **PAPAVERİN** 20

GEREÇ VE YÖNTEM 23

BULGULAR 27

TARTIŞMA 40

SONUÇLAR 50

ÖZET 51

SUMMARY 53

KAYNAKLAR 55

EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

ACE : Angiotensin converting enzyme (anjiotensin konverting enzim)

ADP : Adenosine diphosphate (adenozin difosfat)

AMP : Adenosine monophosphate (adenozin monofosfat)

ATN : Akut tübüler nekroz

ATP : Adenosine triphosphate (adenozin trifosfat)

cAMP : Cyclic adenosine monophosphate (siklik adenozin monofosfat)

C_{5a} : Complement factor 5a (kompleman faktör 5a)

CPK : Creatine phosphokinase (kreatin fosfokinaz)

DNA : Deoxyribonucleic acid (deoksiribonükleik asit)

$ELAM_1$: Endotel lökosit adezyon molekülü 1

ET : Endotelin

GM-CSF : Granulocyte macrophage colony stimulating factor (granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör)

GSH : Glutatyon

$HO_2^{\bullet}$: Hidroperoksil

H_2O_2 : Hidrojen peroksit

$ICAM_1$: Intercellular adhesion molecule 1 (intersellüler adezyon molekülü 1)

IL : İnterlökin

iNOS : İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

İ/R : İskemi/reperfüzyon

LTB_4 : Lökotrien B4

MCP : Monocyte chemoattractant protein (monosit kemoatraktan protein)

MIP : Makrofaj inflamatuvar protein

NAD : Nikotinamid adenin dinükleotid

NADP : Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat)

$NO^{\bullet}$: Nitrik oksit

$NO_2^{\bullet}$: Azot dioksit

NO_3^- : Nitrat

NOS : Nitrik oksit sentaz

O_2^- : Süperoksit radikali

$^{\bullet}OH$: Hidroksil radikali

PAF : Platelet activating factor (trombosit aktive edici faktör)

Pap : Papaverin

PgE_2 : Prostaglandin E2

PgI_2 : Prostaglandin I2, Prostasiklin

SOR : Serbest oksijen radikalleri

tPA : Tissue plasminogen activator (doku plazminojen aktivatörü)

TNF-α : Tümör nekrozis faktör alfa

TXA_2 : Tromboxane A2 (tromboksan A2)

Vit C : Vitamin C

$VCAM_1$: Vascular cell adhesion molecule 1 (vasküler hücre adezyon molekülü 1)

GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi, bir dokuya ya da organa gelen kan akımının azalması veya durması ile oluşan atık ürünlerin yine dolaşım tarafından uzaklaştırılamaması olarak tanımlanır. Reperfüzyon ise, enerji ihtiyacının karşılanması ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması için dokuya ya da organa tekrar kan akımının sağlanması olayıdır. İskemiye uğrayan hücre ve dokular aerobik metabolizma sağlayamadıkları için anaerobik metabolizma yoluyla gerekli enerjiyi sağlamaya çalışırlar. Anaerobik metabolizma sonucu oluşan metabolitler doku perfüzyonu olmadığından dokuda birikir, kan akımının normale döndürülmesiyle (reperfüzyonla) buradaki metabolitlerin oksidasyonu sonucu oluşan maddeler dolaşıma karışır ve kan ile tüm vücuda yayılırlar (1-3).

Alt ekstremitelerde iskemi reperfüzyon hasarı, özellikle aort cerrahisinde abdominal aortaya geçici süre kros-klemp uygulamalarında, tek veya çift taraflı akut femoral arter tıkanıklıklarında, travmatik veya iatrojenik arteryal yaralanmalarda ortaya çıkmaktadır. Ayrıca serebrovasküler olaylar, miyokard infarktüsü, mezenter ve periferik arter embolilerinde uygulanan trombolitik tedaviler, organ transplantasyonu, sepsis, şok, yanık, pankreatit gibi cerrahi ve travmatik durumlarda ortaya çıkan iskemi ve hipovoleminin düzeltilmesi ile ayrıca ekstremitelere cerrahi girişim sırasında uygulanan turnikeler diğer reperfüzyon hasarı sebepleridir (4).

İnfrarenal abdominal aortaya geçici süre kros-klemp uygulaması sırasında iskemik kalan alt ekstremite dokusuna oksijen ve diğer metabolitler sağlanamaz. Dolayısıyla oluşan artık maddeler dolaşım tarafından uzaklaştırılamaz ve dokuda birikir. İskemik bölgedeki hücreler daha önceden sürdürdükleri aerobik metabolizmayı idame ettiremedikleri için anaerobik metabolizma yoluyla enerji sağlamaya çalışırlar. İskemiye bağlı olarak lokal ve

uzak organ hasarından sorumlu olan nötrofil aktivasyonu, proinflamatuar sitokinlerin salınımı, komplemanın aktivasyonu, serbest oksijen radikalleri (SOR) ve proteazların oluşumu, endotelin, angiotensin ve katekolaminler gibi vazokonstrüktör ajanların salınımı gerçekleşir.

Reperfüzyonda uzak organ hasarı etyolojisinde yer aldığı iddia edilen faktörlerden birisi 'washout' fenomenidir. Reperfüzyon sırasında, 'washout' yani yıkanma etkisiyle sistemik dolaşıma birçok kimyasal mediyatör dağılır ve olası mikroembolilerle diğer organ kapilleri tıkanarak uzak organlarda hasara katkıda bulunur (5-7).

Günümüzde iskemi reperfüzyon hasarını önlemeye ve azaltmaya yönelik pek çok tedavi stratejisi geliştirilmiştir. Kardiyovasküler cerrahi teknik ve erken postoperatif dönem takip uygulamalarındaki gelişmelere rağmen aortik girişimler sonrasında gelişen iskemi reperfüzyon hasarı, postoperatif morbidite ve mortaliteyi etkileyen ciddi bir problemdir. En uygun stratejinin ne olduğu halen tartışma konusudur.

Özellikle alt ekstremite iskemi reperfüzyon dönemi sonrasında oluşan uzak organ hasarında böbrekler hedef organ konumundadır ve bu durum klinik olarak önem taşımaktadır.

Serbest oksijen radikallerinin etkisini önlemede ksantin oksidaz inhibitörleri ve birçok serbest oksijen radikali temizleyicilerinin deneysel olarak iskemi-reperfüzyon hasarını önlemede etkinliği gösterilmiştir. Ayrıca iskemi reperfüzyona bağlı hasarda anjiotensin, katekolaminler ve endotelin gibi mediatörlerin de miktarları artmakta, buna bağlı olarak vazokonstrüktör etkiler oluşmaktadır. Vazokonstrüktör etkisi olan bu moleküller organdaki hasarın artışına katkıda bulunmaktadırlar.

Bu çalışmanın amacı, antioksidan etkisi çok eskiden beri bilinmekte olan vitamin C (askorbik asit) ile anjiotensin, katekolaminler ve endotelin gibi mediatörlerin vazokonstrüktif etkilerini geri döndürebileceğini düşündüğümüz vazodilatatör etkili papaverinin, alt ekstremite iskemi reperfüzyon hasarı sonrası böbrek dokusuna etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesidir.

GENEL BİLGİLER

İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI

Bir organın damar yatağında bulunan arterlerde kan akımının kısmen veya tamamen kesilmesi sonucu iskemi tablosu oluşmaktadır. İskemiye uğrayan bölgedeki hücre ve dokular daha önceden sürdürdükleri aerobik metabolizmayı sağlayamadıkları için anaerobik metabolizma yoluyla gerekli enerjiyi sağlamaya çalışırlar. Anaerobik metabolizma sonucu oluşan metabolitler doku perfüzyonu olmadığından dokuda birikir, kan akımının normale döndürülmesiyle (reperfüzyonla) buradaki metabolitlerin oksidasyonu sonucu oluşan maddeler dolaşıma karışır ve kan ile tüm vücuda yayılırlar (1).

Abdominal aortanın ve alt ekstremite arterlerinin cerrahi girişimler sırasında klempe edilmesi daha distalinde iskemiye neden olmakta, klempin açılarak distal kan akımının tekrar sağlanması lokal ve uzak organlarda reperfüzyon hasarıyla sonuçlanmaktadır (6,8,9).

Reperfüzyon hasarı üzerine 1973 yılında yapılmış bir çalışma, iskemik sıçan kalplerinde oksijene bağımlı enzim salınımının önemli rolü olduğunu göstermiştir. Oksijenin dokulara yeniden verilmesiyle miyokard veya diğer hücrelerde iskemi sırasında oluşan toksik hasar daha da şiddetlenmektedir. Bu nedenle dokuya oksijen sunulması sonucu oluşan bu duruma ‘‘oksijen paradoksu’’ adı verilmiştir (1).

Reperfüzyonun ana amacı o doku veya organın korunması ve yeniden fonksiyonlarını kazanması için tamir edilmesidir. Reperfüzyon hasarı iskemi sonrası kanlanmanın tekrar sağlanmasıyla başlamakta iskemi süresine bağlı olarak hedef ve uzak organlarda asemptomatik subklinik hasardan hedef dokuda ödem, çap artışı, nekroz, uzak organlarda fonksiyon bozukluğu, multiorgan yetmezliği ve sonrasında mortaliteye kadar ilerleyen semptomların olduğu geniş bir yelpazede karşımıza çıkmaktadır (1).

İskemik ve Hipoksik Zedelenme

İskemi klinik tıpta hücre zedelenmesinin en sık görülen tipidir. İskemi vücudun bir bölgesine gelen kan miktarının azalması veya kesilmesi, hipoksi ise dokulara giden oksijen miktarının azalması olarak tanımlanır. İskeminin başlaması ile birlikte normalde var olan aerobik metabolizma derhal anaerobik forma dönüşerek doku biyoenerji ve iyon homeostasisi, moleküler regülasyon ve organ performansında bozulmaya yol açmaktadır. İskemi ve hipokside aerobik metabolizma devam edemediğinden dokuda var olan adenozin trifosfat (ATP)'lar tüketilir ve yeni ATP üretimi yetersiz kaldığından enerji ihtiyacı için gerekli olan olayların sürekliliği sağlanamaz (1,10,11).

Adenozin trifosfat seviyelerindeki azalmaya karşın adenozin difosfat (ADP) düzeylerinde artma olur. Artan ADP'ler önce adenozin monofosfata (AMP) daha sonra adenozin, inozin ve en sonunda hipoksantine dönüşür. Hipoksantin reperfüzyon sağlanabilirse oksijen ve ksantin oksidaz enziminin etkisi ile ksantine dönüşür. Ksantinde ortamdaki oksijenle reaksiyona girerek ürik asite parçalanır. Tüm bu dönüşüm işlemleri sonucunda hasardan sorumlu olan serbest oksijen radikalleri ortaya çıkar. Hipoksinin ilerleyerek devamı durumunda ortamda oksijen olmadığından ksantin, nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) ve hidrojen ile reaksiyona girerek ürik asit, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADH) ve H^+ oluşturur. Eğer ortamda oksijen varsa bu ksantinle reaksiyona girer ve bunun sonucunda ürik asit, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit radikali (O_2^-) oluşur (Şekil 1) (1).

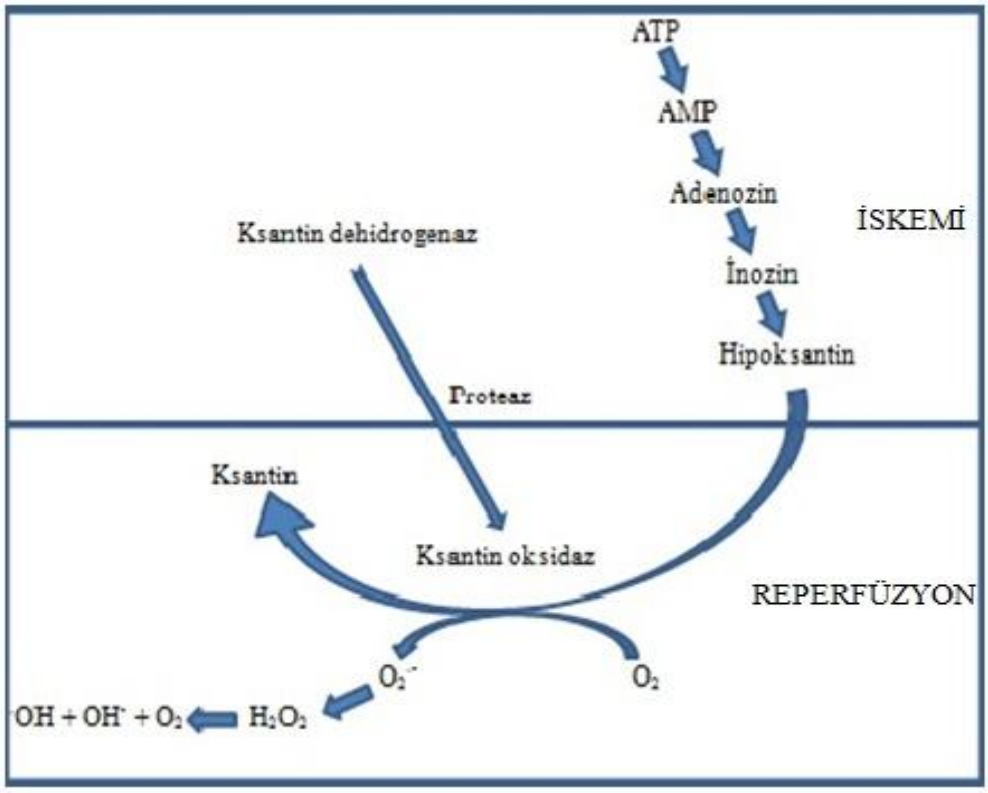
İskemi; glikoliz için gerekli maddelerin taşınamamasına ve oluşan metabolitlerin uzaklaştırılamamasına, glikolizin de inhibe olmasına sebep olur. İskemi süresinin uzaması durumunda ise anaerobik enerji üretimi de durur. Hipokside ise glikolitik enerji üretimi devam edebilmektedir. Bu nedenle iskemi hipoksiden daha hızlı dokulara hasar verir (10).

Geri Dönüşlü Zedelenme

Hipoksinin ilk etkisi hücrenin aerobik solunumu yani mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon üzerinedir; oksijen basıncının azalması sonucu hücre içi ATP üretimi belirgin olarak azalır. ATP azalmasının hücre içindeki birçok sistemler üzerine yaygın etkisi olur (10).

Plazma membranındaki ATP enerjili Na^+-K^+ ATPaz enziminin aktivitesi azalır. Na^+ hücre içinde birikir. Bunu K^+un hücre dışına geçişi izler. Artmış Na^+u dışarı çıkarabilmek için Na^+-Ca^{+2} antiporter sistemi çalışmaya başlar. Bu sistem hücre içindeki artmış olan Na^+dan bir

adet dışarıya çıkarırken bunun yerine bir adet Ca^{+2} içeriye taşır. Bunun sonucu olarak hücre içi Ca^{+2} miktarı artar. İntrasellüler ortamda Na^{+} ve Ca^{+2} birikirken K^{+} azalır. Na^{+} eriğinin hücre içinde net artışı, suyun izoosmotik artışı ile birlikte olup akut hücresel şişme oluşturur (1,10).



ATP: Adenozin trifosfat; **AMP:** Adenozin monofosfat.

Şekil 1. İskemi reperfüzyonda oksijen radikali oluşumu (1)

Adenozin trifosfatta azalma ile birlikte, fosfofrüktokinaz enzimini uyaran AMP'de artma nedeniyle anaerobik glikoliz artar. Glikojenden ATP üretimi, hızla glikojen depolarının tükenmesine yol açar. Artan glikolizde fosfat esterlerinin hidrolizi ile laktik asit ve inorganik fosfatların birikimine neden olur, böylece hücre içi pH azalır. Azalan pH ve ATP seviyeleri ribozomların granüllü endoplazmik retikulumdan ayrılmasına ve polizomların monozomlara ayrışmasına neden olur. Sonuç olarak protein sentezi azalır (10).

Hipoksi düzelmezse membran permeabilitesinin artması daha fazla morfolojik bozulmaya neden olur. Hücre iskeleti dağılırken, mikrovilluslar gibi ultrastrüktürel özellikler kaybolur ve hücre yüzeyinde ‘‘kabarcıklar’’ oluşur, mitokondriler, endoplazmik retikulum ve gerçekte tüm hücreler osmotik regülasyonun kaybından dolayı çoğunlukla şişmiş görünür.

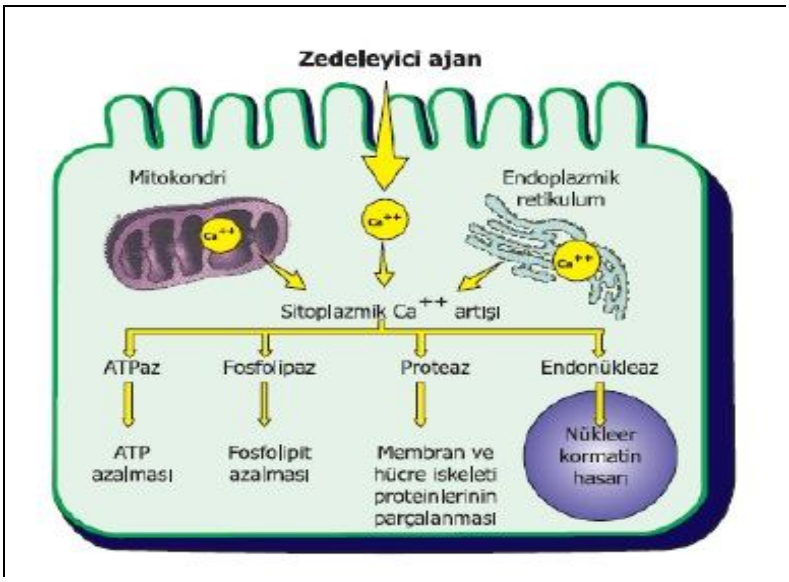
Eğer oksijen eski haline dönerse tüm bu bozukluklar geri dönüşlüdür; bununla beraber eğer iskemi devam ederse geri dönüşsüz zedelenme gelişir (10).

Geri Dönüşsüz Zedelenme

Kritik iskemi zamanı, doku canlılığının sürdürebildiği maksimum iskemi süresi olarak tanımlanır. Hücrenin metabolik aktivitesi ve adaptasyon mekanizmalarına göre kritik iskemi süresi farklılık göstermekle birlikte, uzun süreli iskemide geri dönüşümsüz hasar ve nekroz kaçınılmazdır (12).

Geri dönüşsüz hasar hücre zarının zedelenmesi ile oluşur. Morfolojik olarak mitokondri ve mitokondri kristalarında aşırı vakuolizasyon, plazma zarında aşırı yıkım, lizozomlarda şişme geri dönüşümsüz zedelenmeye yol açan hasarlardır (13).

Membran hasarı sonucu Ca^{+2}, yüksek yoğunlukta bulunduğu hücre içinden hücre dışına geçer. İskemik dokuda reperfüzyon sağlanırsa hücre içine kitlesel kalsiyum alınımı olur. Mitokondriler tarafından kolayca alınan, amorf Ca^{+2}dan zengin yapılar mitokondri matriksinde gelişir ve kalıcı şekilde mitokondri hasarına yol açar (Şekil 2) (14).



ATP: Adenozin trifosfat.

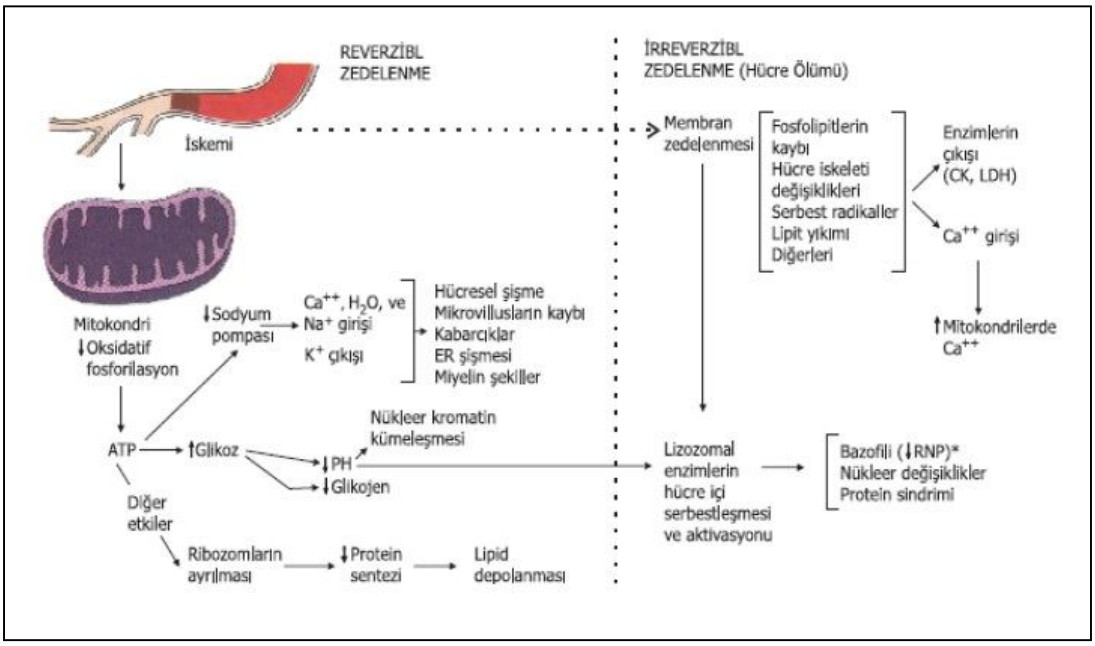
Şekil 2. Hücre zedelenmesinde hücre içi kasiyum artışının kaynakları ve sonuçları (10)

Hücresel zarların tümünde gerçekleşen hasar, hücre organelleri ve hücrede şişme, protein, esansiyel koenzim ve ribonükleik asit kaybı, ATP sentezinde kullanılan

metabolitlerin depolanamamasına bağlı yüksek enerjili fosfat depolarında azalma ve interstisyel alandaki makromoleküllerin hücre içine geçişiyle sonuçlanır. Lizozomal membran hasarı enzimlerin sitoplazma içine sızmasına yol açar.

Asit hidrolazlar, düşük sitoplazmik pH'da, tüm hücresel elemanların enzimatik yıkımına neden olurlar. Lizozomal sindirim, hücre ölümü sonrası interstisyel alanda da devam eder (15).

Hücresel fonksiyonlar hücre ölümünden önce kaybolur. Hasarın morfolojik görünümü kritik biyokimyasal sistemlerde bozukluklar oluşup geri dönüşümsüz hasar oturduktan çok sonra belirgin hale gelir. Hücre şişmesi dakikalar içinde görülebilen geri dönüşümlü bir hasardır. Geri dönüşümsüz hasar 20-60 dakika içinde ışık mikroskobunda görülebilirken, hücre ölümü ancak 10-12 saatte belirgin hale gelir (Şekil 3) (15).



ATP: Adenozin trifosfat; **LDH:** Laktat dehidrogenaz; **CK:** Kreatinin kinaz.

Şekil 3. İskemik zedelenmede olaylar dizisi (13)

İskemi Reperfüzyon Zedelenmesi

İskemik fakat yaşayabilen dokularda kan akımının düzeltilmesi, aksine zedelenmeyi hızlandırarak şiddetlendirebilir. Reperfüzyonla birlikte oluşan hasarın büyüklüğü iskemi süresi ve şiddeti ile ilişkilidir. Kısa süreli iskemilerde reperfüzyon hasarının şiddeti hafif olurken, iskemi süresinin uzun ve geri dönüşsüz hasarın oluştuğu durumlarda reperfüzyonla birlikte hücrelerin kurtarılması mümkün olmayabilir (10,16).

İskemi sırasında dokuda oluşan metabolitler sirkülasyon olmadığından dokuda birikir. Kan akımının normale dönmesiyle metabolitlerin oksidasyonu sonucu oluşan maddeler dolaşıma karışır ve kan yolu ile tüm vücuda yayılarak uzak organ hasarına neden olurlar.

İskemi sırasında hasara duyarlı hale gelmiş bazı hücreleri öldürebilen en olası zararlı etkinin serbest oksijen radikalleri olduğu ileri sürülmüştür. Bunlar endotel, parankimal hücreler ve inflamasyon nedeniyle dokuya nüfuz etmiş nötrofillerden kaynaklanabilir. Lipid peroksidasyonuyla, serbest oksijen radikalleri membranlara zarar verebildikleri gibi, deoksiribonükleik asit (DNA), protein ve mitokondrilere de zarar verebilir. Reperfüzyon esnasında hücre içine Ca^{+2} akümülasyonunun artması ve Ca^{+2}un özellikle mitokondrilere alınması reperfüzyon hasarının bel kemiğini oluşturur.

İskemik bir dokuda reperfüzyonun başlamasıyla, polimorfonükleer lökositler endotel lökosit adezyon molekülü (ELAM-1), intersellüler adezyon molekülü (ICAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1), L-selektin gibi adezyon moleküllerine tutunarak iskemik dokuya yerleşir ve birçok yoldan etki ederek iskemik dokuyu yok ederler (11).

İskemi reperfüzyon zedelenmesinden sorumlu tutulan mekanizmalar olarak serbest oksijen radikalleri, proinflamatuvar mediatörlerin artması, lökosit infiltrasyonu, Ca^{+2} yüklenmesi, fosfolipit peroksidasyonu ve azalması ileri sürülmektedir (17).

İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI MEKANİZMASI

İskemik dokunun infarktüsden kurtulması için reperfüzyon şarttır. Kan akışının sağlanması iskeminin dokuda yapmış olduğu hasarı arttırarak infarkt sahasının genişlemesine neden olur. Bu olayların tamamına birden "reperfüzyon hasarı" adı verilir. İskemi oluşmuş doku ya da organa reperfüzyon sağlanması, sadece iskemi kaynaklı hasara göre daha çok hasara sebep olur (18).

İskemi reperfüzyon hasarında fizyopatolojik değişikliklere sebep olan faktörler (19):

a) Serbest oksijen radikalleri,
b) Polimorf nükleer lökositler,
c) Kompleman sistemi,
d) Endotel hücreleridir.

Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren molekül veya atomlardır. Serbest radikaller stabil olmadığından çok kısa ömürlüdür.

Elektriksel yükleri pozitif, negatif veya nötr olabilir (1). Radikallerle eşlenmemiş elektron nokta ile gösterilmektedir.

Oksijen molekülü eşlenmemiş iki elektron içeren bir radikaldir. Aerobik canlılar yaşamları için gerekli kimyasal ve ısı enerjisini, gıdaları O_2 ile yakarak elde ederler (1).

Organizma sürekli olarak serbest radikal ataklarıyla karşı karşıyadır. Serbest radikaller fizyolojik şartlarda ve dış etkenlere karşı organizmanın savunmasında da belirli oranda oluşur ve içsel mekanizmalarla organizmaya olabilecek zararlı etkileri önlenir. Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikallerin endojen kaynaklı oksijen, nitrik oksit (NO), uyarılmış nötrofil, mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, peroksizom ve plazma membranı olarak sayılabilir (19).

Aerobik canlılarda serbest radikaller için en önemli kaynak moleküler oksijendir. Normal metabolizma sırasında O_2'nin %98'i H_2O'ya indirgenmektedir. Geriye kalan yaklaşık %2'lik kısım ise $O_2^{\bullet}$ ve $^{\bullet}OH$ radikaline dönüşür. En önemli serbest oksijen radikalleri süperoksit (O_2^-) ve hidroksil ($^{\bullet}OH$) anyonlarıdır (1).

Hidrojen peroksid biyolojik sistemlerde süperoksid oluşumu yoluyla sık olarak meydana gelmektedir. Burada iki süperoksid molekülü iki hidrojenle reaksiyona girerek H_2O_2 ve O_2 oluşturur. Eşlenmemiş elektron içermediği için tek başına radikal değildir (1,20).

$$2O_2^{-\bullet} + 2\,H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

Hidrojen peroksitin hücre içinde metabolizması birkaç şekilde olabilir.

1. H_2O_2, katalaz veya glutatyon peroksidaz (GSH-Px) tarafından toksik olmayan ürünlere dönüşür:

a. $2H_2O_2 \xrightarrow{Katalaz} 2H_2O + O_2$

b. $H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{GSH-Px} GSH_2\,H_2O + GSSG$

c. $H_2O_2 + NADPH + H^+ \xrightarrow{GSH-redüktaz} NADP^+ + 2GSH$

2. H_2O_2 geçiş metallerinin varlığında toksik OH radikaline dönüşür: Bu reaksiyona Fenton reaksiyonu denilir.

$$H_2O_2 + Fe^{++} \rightarrow {}^{\bullet}OH + HO^- + Fe^{+++}$$

Hidroksil radikali oldukça reaktif ve toksik bir radikaldir. Hidroksil radikali, elektronegativitesi ve büyük molekül yapısı nedeni ile DNA, protein, karbonhidrat ve lipitler gibi makromoleküllerle reaksiyona girerek oksidatif hasara neden olur (1,21).

Tablo 1'de radikal olan ve olmayan oksijen bileşikleri görülmektedir.

Tablo 1. Oksijen bileşikleri (1)

Reaktif oksijen bileşikleri	**Radikal olmayanlar**
$O_2^{\bullet-}$ = Süperoksit	H_2O_2 = Hidrojen peroksit
$^{\bullet}OH$ = Hidroksil	$^1O_2$ = Singlet oksijen
$HO_2^{\bullet}$ = Hidroperoksil	HOCl = Hipokloröz asit
$RO^{\bullet}$ = Alkoksil	$ONOO^-$ = Peroksinitrit radikali
$ROO^{\bullet}$ = Peroksil	O_3 = Ozon
$NO^{\bullet}$ = Nitrik oksit	LOOH = Lipid hidroperoksit
$NO_2^{\bullet}$ = Azot dioksit	

Süperoksid ($O_2^{\bullet-}$): Çok toksik olmayan bir serbest radikaldir. Diğer oksijen bileşiklerinin oluşumunda anahtar rol oynar. Zayıf oksidan etkisine karşın düşük pH değerlerinde protonlanarak hidroperoksil oluşur (1).

Hidrojen peroksid (H_2O_2): Metal iyonların yokluğunda stabil, zayıf oksidan, zayıf redüktan, biyolojik memranları kolayca geçebilen ve uzun ömürlü bir reaktif oksijen bileşiğidir (1).

Hidroksil ($^{\bullet}OH$): Aşırı reaktif, kısa ömürlü radikaldir. Hücrede oluştuğu yerden daha uzağa gidemez. Oluştuğu yerin hemen çevresinde oldukça büyük hasara yol açabilir (1).

Singlet oksijen (O2): Radikal değildir. Serbest oksijen radikalleri ile birlikte olan reaktif oksijen türüdür (1).

Hidroperoksil ($HO_2^{\bullet}$): Süperoksit radikalinin protonlanmasıyla oluşur ve süperoksitten daha reaktiftir. Biyolojik membranları kolay geçebilmesi ve yağ asitleriyle direkt etkileşime girebilmesi yönünden önemlidir (1).

Diğer serbest radikaller: Lipid, nükleik asit, karbonhidrat veya protein gibi biyolojik molekülde (RH), oksidize radikal ($OH^{\bullet}$ gibi) atağı sonucu oluşan karbon merkezli ($R^{\bullet}$) geniş kapsamlı bir grubu oluştururlar. Bunlar oksijen ile hızla reaksiyona girerek uygun peroksil radikalini ($ROO^{\bullet}$) oluşturur. Bu peroksil radikaller alkoksil radikali ($RO^{\bullet}$) oluşturmak üzere reaksiyona girebilirler. Glutatyonun oksidasyonunda olduğu gibi kükürt atomları serbest radikalin merkezinde (thiyl radikali; $RS^{\bullet}$) olabilir (1).

Nitrikoksit ($NO^{\bullet}$): L-Arginin'in guanidium grubundan, nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi aracılığı ile endotelde sentezlenen serbest radikaldir. Üç farklı NOS enzimi vardır. Endotelial, nöronal ve normal koşullarda üretilmeyen ancak enflamasyon veya enfeksiyon durumlarında sitokinler veya endotoksinler tarafından indüklenebilen NOS (İNOS)'dur. NO,

süperoksit anyon radikali ile hızla reaksiyona girdiğinden hücre koruyucusu olarak düşünülebilir (1,22).

Nitrik oksit vasküler tonusun fizyolojik regülasyonu ve normal vasküler geçirgenliğin idamesi, endotele lökosit adezyonunun engellenmesi, trombosit agregasyonunun inhibisyonu, oksijen derive serbest radikallerin temizlenmesi, düz kas proliferasyonunun engellenmesi, immun defansın güçlendirilmesi, endotel hücrelerinin rejenerasyonu gibi birçok olayda etken bir maddedir (23). Ayrıca iskemik dokularda süperoksit dismutaz aktivitesini etkileyerek hidrojen peroksit birikimini azaltır (24)

Fizyolojik derişimde üretilen NO, esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata (NO_3^-) oksitlenerek aktivitesi sonlandırılır. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksidi ortamdan temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur (25).

İskemi Reperfüzyon Hasarında Polimorf Nüveli Lökositler

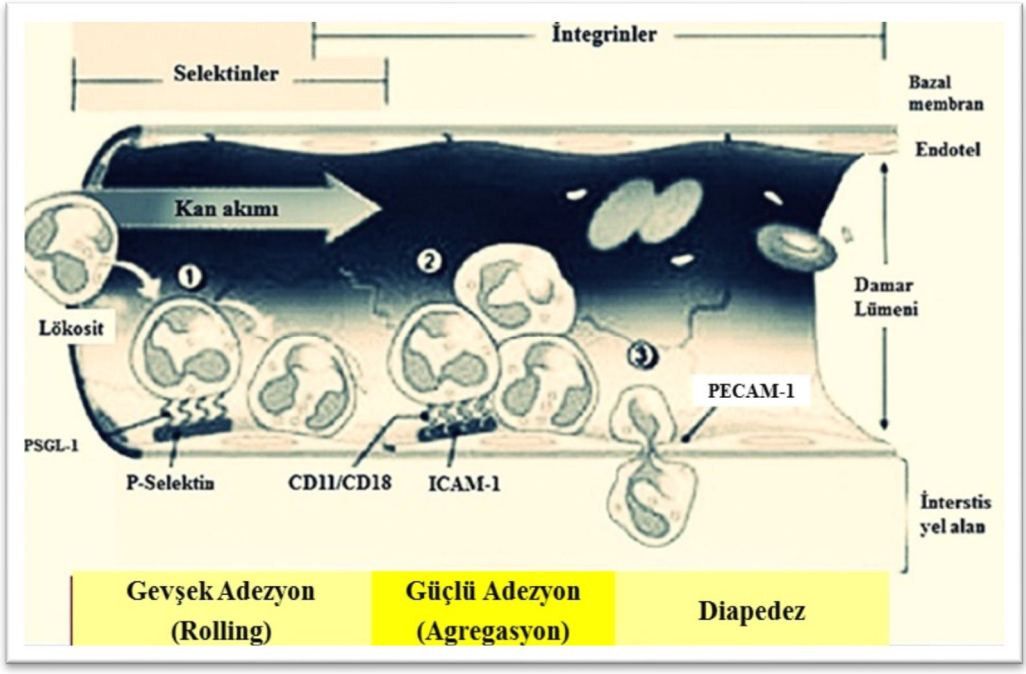
İskemi reperfüzyon hasarında aktif hale gelen ilk hücreler nötrofiller olup, mikrovasküler permeabilitedeki artıştan başlıca sorumlu hücrelerdir (26).

İskemi reperfüzyon hasarında endotel ve lökosit hücre yüzeyleri adezyon molekül oluşumunu artırarak lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit diapedeziyle sonuçlanan kaskadın aktivasyonuna neden olur (27). Oluşturdukları hasar SOR salınması, interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) ve TNF-α gibi sitokinlerin salınımı, sitotoksik enzim salınması, vasküler permeabilitede artış ve mikrovasküler oklüzyon oluşturmalarına bağlıdır. Dolaşımda bulunan nötrofiller aktive olduklarında iskemik doku endoteline yapışıp interstisyel alana geçerler (28).

Polimorf nüveli lökositlerin dokuya geçebilmelerinin ön koşulu endotel hücrelerine yapışmalarıdır (adezyon). Polimorf nüveli lökositler'lerin aktivasyon ve migrasyonları lökositler ve aktive olmuş endotel hücreleri arasında oluşan E-selektin, P-selektin ve L-selektin adı verilen adezyon molekülleri aracılığı ile olur. Adezyona uğramış bu lökositler C5a, lökotrien B4 (LTB4), interlökin 8 (IL-8) ve trombosit aktive edici faktör (PAF) aracılığı ile aktive edilirler ve yüzeylerinde CD11b/18 molekülleri belirir. CD11b/18 ve ayrıca ICAM-1 etkinliği sonucu daha önce oluşan adezyon güçlenir ve transendotelial migrasyon oluşur (Şekil 4) (19,29).

Daha sonra endotel hücreleri arasından geçen lökositler hedef dokuya göç ederler. Lökosit göçü esas olarak venöz kılcallardan olur. Hasarlı dokuya olan lökosit kemotaksisi

C5a, LTB-4, IL-8 yoluyla sağlanır. İskemi reperfüzyon sırasında oluşan TNF-α, IL 1β, PAF ve kompleman sistemi gibi inflamatuvar aracıların hepsi göçüne katkıda bulunur (30).



PSGL-1: P-selectin glycoprotein ligand-1; **ICAM-1:** İntersellüler adezyon molekülü-1
PECAM-1: Platelet endothelial cell adhesion molecule.

Şekil 4. İskemi repefüzyon hasarında lökosit-endotel etkileşimi (19)

İskemi Reperfüzyon Hasarında Komplemanın Rolü

Kompleman sistemi bir dizi plazma proteini ve bu proteinlerin hücre zarı reseptörlerinden oluşur. Hepatositler, monositler, makrofajlar, böbreğin tübüler ve glomerüler hücreleri kompleman komponentlerinin sentez yerleridir. Kompleman sisteminin aktivasyonu sonucunda proinflamatuvar komponentler (C3a, C5a, iC3b ve C5b-9) oluşur. C3a ve C5a anaflatoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler. C5a ayrıca, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-2, MIP-1a, MIP-1b, monosit kemoatraktan protein (MCP)-1, TNF-α, IL-1 ve IL-6 üretimini uyararak inflamatuvar yanıtı arttırır.

Kompleman tarafından sentezi uyarılan lökosit adezyon molekülleri VCAM-1, ICAM-1, E-selektin ve P-selektinlerdir (19,31). C5b9 endotelde IL-1a, IL-8 ve MCP-1 salgısını uyararak lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi arttırır. Aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek ve endotelde siklik guanozin monofosfatı azaltarak vasküler tonusu bozar (19,32).

İskemi Reperfüzyon Hasarında Endotel Hücresinin Rolü

Endotel kan ile dokuları birbirinden ayıran tek sıra dizilmiş hücrelerden oluşan bir bariyerdir. Damar fonksiyonlarının idamesinde görev alır. Seçici geçirgen bariyer özelliği sayesinde kan ve dokular arasında madde alış verişini sağlar (33). Endotel hücreleri SOR için hedef konumundadır, aynı zamanda SOR üretim kaynağıdır. Endotel, mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan endotelin (ET) ve NO'nun ana kaynağıdır (34). Endotel hücrelerinin oksidatif stresi sonucu kompleman aktive edilir lökosit adezyon moleküllerinin üretimi artar. SOR etkisi ile endotel hücreleri endotelin, NO, IL-1, PAF, prostaglandinler (PG I_2, PGE_2), granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), büyüme faktörü ve tromboksan A_2 (TxA_2) salgılarlar. Endotel hücreleri aktive olduklarında kendi bazal membranlarını sindiren kollajenler salgılarlar (35).

DAMAR CERRAHİSİNDE İSKEMİ REPERFÜZYON

Reperfüzyon sendromunda esas olarak iki önemli komponent vardır. Bunlardan biri iskemik sahada oluşan lokal hasar, diğeri yetmezlikle sonuçlanan uzak organ hasarıdır (1).

İskelet kası büyük kütle olması ve iskemik hasara en hassas dokulardan olması nedeniyle alt ektremite iskemi reperfüzyon hasarında önemli rol oynar. Reperfüzyon hasarında prognoz kas hasarı miktarına bağlıdır (36).

İskemiye karşı doku toleransı, dokunun yapısı ve kollateral akımla yakından ilişkili olmakla birlikte, sıcaklık ve doku kitlesi de önemli etkenlerdir. Kas dokusunu oluşturan kas liflerini iki temel tip oluşturmaktadır ve buda iskemide meydana gelen hasarı etkilemektedir. Bu lifler kasın miyoglobin içeriğine göre kırmızı veya beyaz lifler olarak adlandırılmaktadır. Kırmızı liflerde (hafif hareket eden) oksidatif metabolizma dominanttır ve enerji kaynağı olarak trigliseridleri kullanırlar. Beyaz liflerde (hızlı kasılan) anaerobik metabolizma daha baskındır ve enerji kaynağı olarak glikojen kullanılmaktadır (1,37).

İskemik dokuda reperfüzyonla birlikte başlayan inflamatuvar yanıt lokal hasarı arttırmaktadır. İnflamatuvar yanıt oluşumunda ölen hücrelerden salınan asit fosfataz, aminoasitler, aspartat aminotransferaz, laktat dehidrogenaz, kreatin fosfokinaz, histamin benzeri maddeler, inorganik fosfatlar, laktat, lizozimler, miyoglobin, nükleotidler, potasyum, proteolitik enzimler, pürin bazları gibi ürünler önemli rol oynamaktadır (1,36).

Hasarlı dokudan yıkım ürünlerinin salınması sonucu pıhtılaşma mekanizmalarının aktifleşmesi mikrovasküler hasar ve mikrovasküler trombozis oluşturarak kas hasarının daha da yaygınlaşmasına neden olur. Böylece kapiller kaçak ve interstisyel basınçta artma gözlenir.

Eğer interstisyel basınçlar mikrosirkülasyon basıncına yaklaşır veya aşarsa kan akımı engellenecektir (1).

Doku hasarının ilerlemesinde önemli noktalardan biri pıhtılaşma sonucu oluşan inflamatuvar mediatörlere bağlıdır. Bu nedenle yapılan bazı çalışmalarda yüksek doz heparin'in permeabilite değişikliklerini azaltabileceği, kollateral akımı düzeltebileceği ve iskemik demarkasyon seviyesini azaltabileceği gösterilmiştir (1,38).

Prokoagülanlar ve yıkım ürünleri dokunun yıkanması sonucu sistemik dolaşıma geçer ve sistemik koagülasyon oluşturabilir. Faktör XII'nin aktivasyonu, histamin, kompleman, tromboksan ve bradikinin gibi inflamatuvar mediatörler pıhtılaşmayı başlatabilir (1). Ekstremitede, iskemi reperfüzyonu izleyen dönemde renal yetmezlik sonucu önemli mortalite artışının olduğu bilinmektedir. Burada iskemik dokudan salınan miyoglobin veya diğer toksik faktörlerin önemli rol oynadığı kabul edilmektedir (36,39).

Ayrıca akciğer, karaciğer, santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem ve miyokard disfonksiyonu görülebilir (39). Oluşan komplikasyonların şiddeti tutulan doku kitlesi ve iskemi süresi ile ilişkilidir, morbidite ve mortaliteyi azaltmak amacıyla kas hasarı oluşmadan önceki kritik safhada kan akımının düzeltilmesi gerekmektedir (36).

Bazı deneysel çalışmalarda antioksidanların, antitromboksanların, antilökotrienlerin ve antitrombosit aktive edici faktörlerin reperfüzyonun sistemik etkilerinden korunmak amacıyla kullanılabileceği gösterilmektedir (36).

Lökosit aracılı iskemi reperfüzyon hasarını engellemeyi hedefleyen çalışmalar inflamatuvar mediatör salınımı ve reseptör bağlanması, lökosit adezyon molekülü sentezi ve lökosit endotel adezyonunun inhibisyonu üzerine odaklanmıştır (40).

RADİKALLERE KARŞI SAVUNMA SİSTEMLERİ

Organizmada oksidan radikallerin zararlı etkilerine karşı koruyucu etkisi olan hücre içi enzimatik savunma sistemleri, antioksidan savunma sistemleri olarak adlandırılır (41)

Oksidan maddeler belirli düzeyde kaldıklarında organizmanın yabancı cisimlere, maddelere ve enfeksiyon ajanlarına karşı önemli savunma molekülleridir. Belirli düzeyin üstüne çıktığında ve antioksidan savunma sistemleri yetersiz kaldığında serbest radikaller lipid, protein, karbonhidrat ve nükleik asit gibi hücrenin bazal yapı taşlarını hasara uğratarak zararlı olmaktadır (1).

Memeli hücrelerini oksidanlara karşı savunan beş mekanizma önemlidir (1).

a) Metal iyonlarının bağlanması ile toksik radikal oluşumunun önlenmesi,

b) Oluşan radikallerin toplanması ve bastırılması,
c) Radikal zincir reaksiyonlarının kırılması,
d) Hedef molekülün hasar sonrası tamiri veya tamir edilemeyecek durumdaki moleküllerin uzaklaştırılması,
e) Antioksidan kapasitenin arttırılması.

Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksid dizmutaz (SOD): $O_2^{\bullet}$ radikalinin H_2O_2'ye dismutasyonunu katalizler.

Katalaz: Membrana bağlı bir peroksizom enzimidir. Hidrojen peroksitten su ve oksijen oluşumunu katalize eder (1,41).

Glutatyon peroksidaz: Sitozol ve mitokondri de SOD tarafından oluşturulan H_2O_2'yi ortadan kaldıran başlıca enzimdir. Yapısında eser element olan selenyum bulunur. İndirgenmiş glutatyonun varlığında H_2O_2'nin peroksidasyonunu katalizleyerek H_2O ve oksidize glutatyon oluşumunu sağlar (42).

Katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri peroksidlerin güvenli bir şekilde ortadan kaldırılmalarını sağlar. Bunlar esas olarak peroksizomlarda lokalizedir ve etkilerini hidrojen peroksid üzerinden yaparlar (1).

Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Bazı ilaçlarında antioksidan etkilerinin olduğu bilinmektedir. Beta bloker olan metoprololün lipid peroksidasyonu azalttığı ve indirgenmiş glutatyon konsantrasyonunu arttırdığı kabul edilmektedir. Yine karvedilolün de serbest radikal temizleyici özelliği ve oksidatif stresi azaltıcı etkisi olduğu bilinmektedir. Bir başka antiaritmik ilaç olan amiodaronun da antioksidatif özellikleri olduğu belirtilmektedir (1).

Yörüngelerinde eşlenmemiş elektronu bulunan ve serbest radikallerle reaksiyona girebilen demir ve bakır iyonlarını bağlayan laktoferrin, seruloplazmin ve albümin doğal önleyici antioksidanlardır. Bir demir şelatörü olan desferrioksamin aşırı demir iyonunun indüklediği hidroksil radikali üzerinden gerçekleşen membran lipit peroksidayonunu önleyerek antioksidan özellik gösterir.

Süpürücü (Zincir Kıran) Antioksidanlar

Doğal süpürücü antioksidanlar, hücre içi ve hücre dışında bulunurlar. Askorbik asit, ürik asit, bilirübin, tiyoller, tokoferol, beta karoten, ubikinol ve flavonoidler bu grupta yer alır.

Demir iyonlarına bağlı lipit peroksidasyonunu önleyen salisilatlar, hidroksil radikali süpürücüleri olan mannitol, dimetilsülfoksit ve dimetiltiyoüre, reperfüzyon sırasında süperoksit radikali oluşturan ksantin oksidaz enzimini inhibe eden allopürinol ve oksipürinol farmakolojik süpürücü antioksidanlara örnek gösterilebilir (41).

Bazı çalışmalarda C ve E vitamini ile melatoninin önemli antioksidan etkileri olduğu kabul edilmektedir. Antioksidan savunma sisteminde, E vitamini lipid peroksid zincir reaksiyonlarını kırarak radikal temizleyicisi olarak rol alır. E vitamini eksikliğinde oksidatif strese bağlı olarak miyokardiyal hasarlar daha şiddetli olduğundan E vitamini ile tedavi edilen sıçanlarda kontraktil fonksiyonların korunduğu ve infarkt alanının azaldığı gözlenmiştir (1).

BÖBREĞİN YAPI VE FONKSİYONLARI

Böbrekler insan vücudunda retroperitoneal kavitede, karın arka duvarının en üst kısmında ve columna vertebralisin her iki yanında bulunurlar. Üst uçları 12. torakal vertebranın üst kenarı, alt uçları ise 3. lomber vertebra seviyesinde bulunur. Sağ böbrek, karaciğerin sağ lobunun büyük olması ve basısı nedeni ile sola göre 1-2 cm daha aşağıda bulunur. Yetişkin bir insan böbreği yaklaşık 12 cm uzunluğundanır ve erkeklerde yaklaşık 150 g, kadınlarda ise 135 g ağırlığındadır. Böbrekler en dışta fibröz bir kapsül ile sarılmıştır. Sagital olarak kesildiğinde dışta korteks, içte medulla olmak üzere 2 kısımdan oluşur. Medulla, medullar piramit adı verilen 10-18 adet piramidal yapıdan oluşur. Piramitlerin tabanları kortikomedüller bölgede bulunurken, tepe kısımları kaliks içine kadar uzanır. Kaliks içine açılan bu kısımlara papilla ismi verilir (43).

Her iki böbrek parankimi bağ dokusuyla birbirine bağlı nefronlardan oluşur. Nefronlardan gelen idrar pelviste toplanır ve üreteropelvik birleşme yerinde üreter içine akar. Üreterler her bir böbrekte oluşan idrarı mesaneye taşır (44,45).

Renal arter hilustan böbreğe girer, önce interlober daha sonra arkuat arterlere ayrılır. İnterlobuler arterler arkuat arterlerden dik olarak çıkar. İnterlobuler arterlerden glomerüle giden afferent arterioller köken alır. Glomerülü oluşturan kapillerler birleşerek efferent arteriolleri oluşturur. Efferent arterioller dallanarak tübülüsleri saran, böbrekteki ikinci kapiller ağ sistemi olan peritübüler kapiller ağı oluşturur. Peritübüler kapillerden gelen kan venöz sisteme dökülür. Oradan sırasıyla arteriyal sistemle paralel olarak interlobuler ven, arkuat ven, interlober ven ve renal veni takip eder. Renal venler ise inferior vena kavaya drene olur (46).

İnsanda her bir böbrek idrar oluşturma yeteneğine sahip yaklaşık bir milyon nefrondan oluşur. Nefron, afferent ve efferent arteriollerden meydana gelen bir kapiller yumağı olan glomerül ile başlamaktadır. Glomerüller özelleşmiş bir kılcal damar ağından oluşmuştur. Glomerül, renal tübülün genişlemiş ucu tarafından oluşturulan Bowman kapsülü ile sarılmıştır. Bowman kapsülü proksimal kıvrımlı tübülün başlangıcını oluşturur. Proksimal tübül nefronun metabolik olarak en aktif bölümü olup, glomerüler filtrat hacminin %60-80'inin; filtre edilmiş sodyum ve klorun %70'inin; böbrekten atılan hidrojenin %90'ının; sülfat, fosfat, bikarbonat, glukoz ve potasyumun büyük bir bölümünün geri emilimini sağlar.

Proksimal tübül önce Henle kulbunun aşağı doğru inen ince kulbuna boşalır ve yukarı doğru uzanan ilk ince dal, sonra da yukarı doğru çıkan kalın ilmeği oluşturur. Henle kulbunun ana görevi hipotonik ve konsantre idrar üretimini sağlamaktır. Distal tübül yukarı doğru çıkan Henle kulbunu toplayıcı tübülle birleştirir. Na^+, K^+, Cl^-, H^+ atılımında ve geri emiliminde görev alır (44,47).

Glomerülden filtre edilen sıvı sırasıyla proksimal tübül, henle kulbu, distal tübül ve toplayıcı kanallardan geçer, renal papillaların içinden renal kalikse oradan renal pelvis ve üretere geçer (43,48).

Distal tübülüsün başlangıcı her nefronda, afferent ve efferent arterioller ile temas halindedir ve bu üç yapı jukstaglomerüler aparatus denen yapıyı oluşturur. Jukstaglomerüler aparatusun görevi renin salgılamak, glomerüler filtrasyon ve renal kan akımının regülasyonunu idare etmektir. Jukstaglomerüler aparatusun distal tübülüsteki değişiklik gösteren hücrelerine makula densa denir ve distal tübülüsteki sıvının bileşimine göre jukstaglomerüler aparatusun aktivitesini ayarlar (46).

Nefronların temel işlevi istenmeyen maddeleri plazmadan temizlemektir. Bunun için kullanılan mekanizmalar;

a) Glomerüler filtrasyon: Glomerüldeki kan plazmasının bir bölümü (yaklaşık 1/5'i) glomerüler membrandan filtre edilir.
b) Tübüler reabsorbsiyon: Filtre edilen sıvı, tübüllerde ilerlerken su ve diğer gerekli maddeler reabsorbe edilir. İstenmeyen maddeler idrar oluşumuna katkıda bulunur.
c) Tübüler sekresyon: Plazmadaki bazı maddeler tübülleri döşeyen epitel hücrelerince doğrudan tübüler sıvı içine sekrete edilir (46,48).

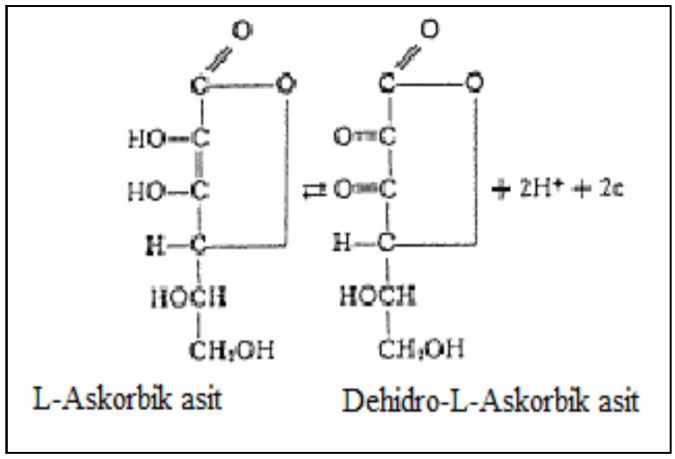
Endotelden kaynaklanan nitrik oksit, böbrek damar direncini azaltır ve glomerüler filtrasyonu artırır. PgE2, PgI2 ve bradikinin de damarları genişleten ve glomerüler filtrasyonu artıran diğer otakoidlerdir (49).

Böbreğin temel fonksiyonları şunlardır (45):

a) Vücut sıvı ve elektrolit dengesinin korunması ve sürdürülmesi,
b) Metabolik atık ürünlerin (üre, ürik asit, kreatinin) atılımı,
c) İlaçlar, toksinler ve bunların metabolitlerinin detoksifikasyonu ve atılımı,
d) Ekstrasellüler sıvı hacmi ve kan basıncının hormonal düzenlenmesi,
e) Hormon sentezi ve metabolizmasına katkı (eritropoetin, D vitamini),
f) Peptid hormonlarının (insülin, glukagon) yıkımı,
g) Küçük molekül ağırlıklı proteinlerin (β2 - mikroglobulin) yıkımı,
h) Metabolik etki (Glukoneogenez, lipid metabolizması).

VİTAMİN C (ASKORBİK ASİT)

Askorbik asit, kapalı formülü C6H8O6 olan bir ketolaktondur. L-askorbik asit ve D-askorbik asit olmak üzere iki şekli mevcuttur. D-askorbik asit inaktiftir. L izomeri ise biyolojik olarak aktif formudur. C vitamini denildiği zaman aktif olan L-askorbik asitten bahsedilir (50).



Şekil 5. Askorbik Asit'in yapısı (50)

Askorbik asitin, kuvvetli indirgen bir bileşik olmasının nedeni enediol (C-2, C-3) hidroksil gruplarından hidrojen atomlarının ayrışmasına bağlıdır. Askorbik asit oksitlenmekle iki hidrojen atomunu yitirir ve dehidroaskorbik asit oluşur. Vücutta askorbik asit ve dehidroaskorbik asidin göreceli oranları %90 ve %10'dur. İndirgenmiş şekli daha baskındır, çünkü glutatyon ve sülfidril gruplu bileşikler tarafından korunmaktadır (Şekil 5).

Vitamin C (Askorbik Asit)'nin Farmakolojik Özellikleri

Farmakodinamik özellikler: Vitamin C (askorbik asit) suda çözünen en güçlü antioksidan moleküldür. İnsanlarda sentez edilmediğinden diyetle alınması gerekir. Organizmada kolayca dehidroaskorbik aside oksitlenebilir. Başlıca fizyolojik rolü kapiller permeabiliteyi azaltmak ve antihemorajik bir etki oluşturmaktadır (51,52). Askorbik asit, enzimlere elektron taşıyarak redükleyici eşdeğerlerini meydana getirmek yoluyla bir dizi hidroksilasyon ve amidasyon reaksiyonunda kofaktör olarak görev alır. $O_2^{-\bullet}$, $HO^{\bullet}$, singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Bazen antioksidan ve pro-oksidan gibi etkiyebilir. Askorbik asid, serbest radikallerle etkileşen bir hidrojen atomu ($H^{\bullet}$) vericisi rolü oynayarak, toksik olmayan bileşiklere dönüştürür ve antioksidan gibi etkir (51). Antioksidan etkisi yanında oksidan etki de gösterir. Askorbik asit proteine bağlı ferrik demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan indirgeyerek Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye ve sonunda hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$) oluşturmaya uygun ferröz demire dönüştürür. Bu özelliğinden dolayı vitamin C, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalizörü veya bir prooksidan olarak değerlendirilir.

Ancak bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olarak etki ettiği kaydedilmiştir (19,51).

$$Fe^{+++} + \text{Vit C} \longrightarrow Fe^{++} + \text{Vit C}^{\bullet} + 2H^{+}$$

Bu şekilde oluşan C vitamini radikali çok reaktif değildir, NADH tafından indirgenir, ya da iki proton alarak serbest radikal reaksiyonlarını durdurur (19).

Katekolaminlerin (noradrenalin, adrenalin) sentezinde devreye girer ve cAMP'nin etkilerini potansiyalize eder, vücudun strese olan yanıtında önemli bir vitamindir (51).

Vitamin C çok sayıda biyolojik reaksiyonda oksido-redüktör olarak rol oynar. Özellikle kollagen oluşumu (sikatrizasyonda), karnitin (mitokondriumda yağ asitlerinin transportunu kolaştıran) sentezi ve kolesterolün safra asitlerine dönüşümlü reaksiyonlarında (hidroksilasyon) gereklidir. Sitokrom P-450 sistemiyle oksidasyonları kolaylaştırarak detoksifikasyon görevi yapar (51).

Methemoglobinin hemoglobin indirgenmesini sağlamaktadır, yani methemoglobin redüktazla aynı görevi yapar.

Ayrıca trombositlerin agregasyonunu inhibe eder. Askorbik asit T lenfositlerin normal fonksiyonları ve lökositlerin fagositoz aktivitelerinde önemlidir. Ayrıca bazı antiinflamatuvar aktiviteleri kontrol altında tutar ve hücreyi oksidasyona karşı korur.

Farmakokinetik özellikler: Askorbik asit, ağırlıklı olarak ince barsağın üst kısmında duedonum ve proksimal jejunumdan sodyuma bağımlı aktif transport mekanizması yoluyla emilir. Bu absorbsiyon doyurulabilir (saturabl) niteliktedir. Absorbe olan miktar dozla azalmaktadır. Yüksek konsantrasyonlarda emilim pasif difüzyon yoluyla olur (51).

Askorbik asidin plazma konsantrasyonu 12 mg/L'yi aştığında idrardan elimine olur. Oksalat ve dioksoglonik asit idrardan atılan başlıca metabolittir. Askorbik asitin vücuttaki yarı ömrü 10-20 gündür. Besinlerle alınamazsa askorbik asit depoları 2-3 haftada boşalır (51).

Vitamin C (Askorbik Asit)'nin Endikasyonları

Vitamin C yetmezliği durumlarında (preskorbüt, skorbüt; methemoglobinemi, gastroenteropati, sistinüri ve Ehlers-Danlos sendromu) kullanılır. Ayrıca C vitamini gereksiniminin arttığı gebelik ve emzirme dönemlerinde, çok sigara içenlerde, tetrasiklin ve asetil salisilik asitle tedavide, bulaşıcı hastalıklarda, cerrahi girişimlerde ve diyaliz hastalarında kullanılır.

Vitamin C (Askorbik Asit)'nin Kontrendikasyonları

Asidüri veya normal idrar pH'sı ve oksalüri ile birlikle görülen böbrek taşı vakalarında verilmemelidir.

Vitamin C (Askorbik Asit)'nin Yan Etkileri

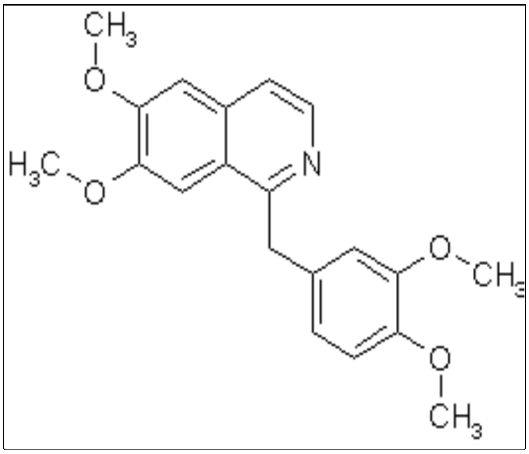
Askorbik asit vücutta çok iyi tolere edilir. Yüksek dozlar nadiren diyare veya diüreze neden olabilir. Uzun süre günde 1 g'dan fazla kullanımı böbrek taşı oluşumuna neden olabilir.

PAPAVERİN

Direkt etkili periferik vazodilatatörler grubunda sınıflandırılır. Bu grupta bulunan ilaçlar sadece damar düz kaslarını değil, diğer yapıların da (mide bağırsak kanalı, uterus ve üreterler gibi) düz kaslarını gevşetirler. Bunlara "müskülotrop vazodilatatörler" adı verilir.

Damarlar ve diğer düz kaslı yapılarda spazm hali mevcut ve diğer düz kas hücreleri kasılmış durumda iseler, bu ilaçların gevşetici etkileri daha belirgin bir biçimde ortaya çıkar. Bundan dolayı, direkt etkili vazodilatatör ilaçlar spazmolitik veya antispazmolitik ilaçların bir tipini teşkil ederler (53).

Afyon içinde yaklaşık %1 oranında bulunan ve ondan veya haşhaş kapsülünden elde edilen bir alkaloiddir. Kimyaca izokinolin türevidir (53).



Şekil 6. Papaverinin kimyasal yapısı

Papaverinin Farmakolojik Özellikleri

Farmakodinamik özellikler: Bütün düz kaslı yapıları gevşetebilir. Direkt etkisiyle düz kasları gevşeten ilaçların en eskisidir. Beyin damarları üzerinde diğer ilaçların çoğuna göre daha güçlü vazodilatatör etkisi vardır. Aşırı dozda verildiğinde, kalpte iletim bozukluğuna bağlı aritmilerin oluşmasına neden olur. Sözü edilen kardiyak etkileri yönünden kinidine benzer (53).

Papaverinin damar ve diğer yapıların düz kas hücreleri üzerindeki gevşetici nitelikteki etkilerinin hücrelerde fosfodiesteraz enzimini inhibe etmesi ile ilişkili olduğu sanılmaktadır. Bu enzim hücrelerde adenilat siklaz enzimi tarafından ATP'nin yıkılması sonucu oluşan ve ikinci ulak görevi yapan cAMP'yi inaktive eder. Papaverin etkisi altında cAMP'nin inaktivasyonunun azalması, hücre içinde konsantrasyonun artması damar düz kaslarının gevşemesine ve miyokard hücrelerinin uyarılmasına yol açar. Ayrıca papaverin endojen adenozinin alımını bloke ederek onun vazodilatatör etkinliğini arttırır. Hücreye kalsiyum girişini engelleyebilir (53).

Bazı organlarda gevşetici etkisinin mitokondrilerde oksidasyonun inhibisyonu sonucu olduğu gösterilmiştir.

Farmakokinetik özellikler: İntravenöz ve intraarteriyel yolla verilen papaverin etkisini hemen gösterir. Oral yoldan verildiğinde mide-barsak kanalından tamamiyle absorbe edilir (53). Papaverin karaciğerde süratle metabolize olur ve idrarla fenolik metabolitlerin glukuronid konjugeleri şeklinde atılır. Proteine %90 oranında bağlanır. İdrarla inaktif formu çıkar. Yarı ömrü 0,5-2 saat arasında değişir. Bazen 24 saate kadar uzayabilir.

Papaverinin Endikasyonları

Periferik vazodilatatör ve müskülotrop spazmolitik etkilidir. Gastrointestinal spazmlar, safra kolikleri, periferik tromboemboli, bronşiyal astım, Raynaud hastalığı, Burger hastalığı, Parkinson, akut vazospastik hastalıklar (hipertansif ansefalopati, preeklampsi, toksemi) ve yeni doğanların pilor spazmında endikedir (53).

Papaverinin Kontrendikasyonları

Papaverin yüksek dozlarda atrioventriküler node ve intraventriküler kondüsyonu deprese edebilir ve bunun sonucu ventriküler orjinli prematür kontraksiyonlar veya paroksismal taşikardiler şeklindeki geçici ektopik ritimlere yol açar (53).

Papaverinin Yan Etkileri

Yüz ve boyunda kızarma, terleme, bulantı, başdönmesi, başağrısı, hafif uyuşukluk hali, iştahsızlık, mide bozukluğu, kabızlık veya ishal ve alerjik cilt döküntüleridir. Papaverinin hepatotoksik etkiside vardır. İntravenöz injeksiyonu hızlı yapılırsa aritmilere neden olabilir. Glokom krizini başlatabilir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun TÜHDYEK-2011/50 protokol, 2011.07.10 karar nolu onayı alındıktan sonra Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi Laboratuvarı'nde yapıldı (Ek-1). Sıçanlar Deney Hayvanları Birimi'nden temin edildi. Çalışmada yaklaşık 3.5-4 aylık, dişi, 190-250 gr ağırlığında, 32 adet Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Sıçanlar randomize olarak eşit sayıda (n=8) 4 gruba ayrıldı. Sıçanlar deney süresince 12'şer saatlik aydınlık-karanlık ışıklandırması olan, ısısı 20-22 ^{0}C ve nem oranı %45-50 olan, otomatik olarak ayarlanan odalarda yaşatıldı. Bu süreçte tüm sıçanlar şeffaf kafeslerde tutuldu. Sıçanların beslenmesinde standart ticari pellet yemi ve çeşme suyu kullanıldı. Deneye başlamadan önce hayvanların bir hafta ortam koşullarına adaptasyonları sağlandı. Tüm sıçanların bakımı, Tıbbi Araştırmalar Ulusal Derneği tarafından biçimlendirilen 'Deney Hayvanlarının Bakım Prensipleri'ne ve Laboratuvar Hayvanı Kaynakları Enstitüsü tarafından hazırlanıp Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından yayınlanan (NIH basım no.85-23, 1985 revize edildi) 'Laboratuvar Hayvanlarının Bakım ve Kullanımı için Kılavuz'una uygun olarak yapıldı. Deneyde kullanılacak tüm sıçanlar yapılacak işlemler öncesinde tartılarak vücut ağırlıkları kaydedildi.

DENEKLERİN HAZIRLANMASI VE CERRAHİ TEKNİK

Tüm sıçanlara 8 saatlik açlık sonrasında ketamine HCl 40 mg/kg (Ketalar® 50mg/ml flakon, Pfizer İlaçları Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye) + ksilazin hidrokorür 5 mg/kg (Rompun® 23.32mg/ml, 50 ml flakon, Bayer Türk Kimya San. Tic. Ltd. Şti, İstanbul, Türkiye) sol ön ayak adalesine intramusküler yolla uygulanarak anestezi uygulandı. Gerekli olduğunda deney

süresince bir kez olmak üzere ketamine HCI ek doz yapılması planlandı. İşlem boyunca sıçanların solunumları spontan olarak devam edecek şekilde uygulandı. Sıçanlar ısıtıcı lamba altında supin pozisyonda masaya yatırıldı. Tüm sıçanların ciltleri aseptik olarak hazırlandıktan sonra ksifoidin hemen altından pubisin 0,5 cm üstüne kadar orta hat median laporotomi yapıldı. Laporotomi sonrası barsaklar nemli bez yardımı ile sağa deviye edildi. İnfrarenal abdominal aorta ve sol böbrek künt diseksiyonla eksplore edildi. Tüm sıçanlara antikoagülan amaçlı düşük doz (100 ü/kg) heparin (Nevparin® 25000 IU 5ml flakon, Mustafa Nevzat İlaç Sanayi A.Ş., Türkiye) yapıldı. Deney süresince sıvı resüsitasyonu amacıyla 10 ml/kg %0,9'luk NaCl kuyruk veninden verildi. Tüm infüzyonlar perfüzatör (Perfusor Compact, B. *Braun*®, Almanya) yardımı ile gerçekleştirildi. İnfrarenal abdominal aortaya atravmatik mikrovasküler klemp (Novaclip® 12 mm Angle, Plymouth, ABD) kondu. Klemp sonrasında peritoneal boşluğa yaklaşık 5 ml ılık serum fizyolojik sıkıldı. Sıvı kaybını önlemek için karın 3 adet ipek dikiş ile yaklaştırıldı. 1 saatlik iskemiyi takiben infrarenal abdominal aortadaki atravmatik mikrovasküler klemp kaldırıldı ve 2 saatlik reperfüzyon periyodu uygulandı. Aortik iskemi klempleme işlemi sonrasında aortada pulsasyon kaybı, reperfüzyon ise klempin kaldırılmasından sonra aortada pulsasyon varlığı ile takip edildi. Deneyin sonunda tüm gruplarda sıçanların sol böbrekleri alındı. İşlem sonrası sıçanlar sakrifiye edildi. Böbrek dokuları %10'luk formaldehit solüsyonu içinde saklandı.

DENEY GRUPLARI

Kontrol Grubu (Grup K) (n=8)

Cerrahi hazırlık ve anestezi indüksiyonu sonrasında median laparatomi yapılarak infrarenal aort eksplore edildi. Aort künt diseksiyonla dönüldü. Aorta klemp konulmadı. Karın içine ılık serum fizyolojik enjekte edilerek, karın 3 adet ipek ile yaklaştırıldı. Diğer gruplara uygulanan 1 saat iskemi, 2 saat reperfüzyon süresi tamamlandı. İşlem sonunda sıçanların sol böbrekleri alınarak sakrifiye edildi.

İskemi/Reperfüzyon Grubu (Grup İR) (n=8)

Cerrahi hazırlık ve anestezi indüksiyonu sonrasında median laparatomi yapılarak infrarenal aort eksplore edildi. Aort künt diseksiyonla dönüldü ve atravmatik mikrovasküler klemp yerleştirildi. Aorta distalinde pulsasyon kaybı olduğu görüldü. Karın içine ılık serum fizyolojik enjekte edilerek, karın 3 adet ipek ile yaklaştırıldı. 1 saatlik iskemi ardından ipekler alındı. Mikrovasküler klemp kaldırıldı. Aorta distalinde pulsasyonun tekrar başladığı görüldü.

Karın katları tekrar yaklaştırıldı. 2 saatlik reperfüzyon periyodunun ardından sol böbrek alınarak sıçanlar sakrifiye edildi.

İskemi/Reperfüzyon + Vitamin C grubu (Grup İR+Vit C) (n=8)

Cerrahi hazırlık ve anestezi indüksiyonu sonrasında median laporotomi yapılarak infrarenal aort eksplore edildi. Aort künt diseksiyonla dönüldü ve atravmatik mikrovasküler klemp yerleştirildi. Aorta distalinde pulsasyon kaybı olduğu görüldü. Karın içine ılık serum fizyolojik enjekte edilerek, karın 3 adet ipek ile yaklaştırıldı. 1 saatlik iskemi ardından ipekler alındı. Mikrovasküler klemp kaldırıldı. Aorta distalinde pulsasyonun tekrar başladığı görüldü. Karın katları sıvı kaybını engellemek amacıyla tekrar yaklaştırıldı. Klemp kaldırılmadan, reperfüzyon başlamadan 15 dakika önce vitamin C (askorbik asit) 50 mg/kg (Redoxan® 500 mg/5 ml flakon, Bayer Türk Kimya San. Tic. Ltd. Şti, İstanbul, Türkiye) infüzyonuna başlandı ve reperfüzyon süresince devam edildi. İnfüzyon kuyruk veninden gerçekleştirildi. Reperfüzyon süresinin sonunda ipek sütürler alınarak batın tekrar açıldı. Sıçanların sol böbrekleri alınarak sakrifiye edildi.

İskemi/Reperfüzyon + Papaverin Grubu (Grup İR+P) (n=8)

Cerrahi hazırlık ve anestezi indüksiyonu sonrasında median laparatomi yapılarak infrarenal aorta eksplore edildi. Aort künt diseksiyonla dönüldü ve atravmatik mikrovasküler klemp yerleştirildi. Aorta distalinde pulsasyon kaybı olduğu görüldü. Karın içine ılık serum fizyolojik enjekte edilerek, karın 3 adet ipek ile yaklaştırıldı. 1 saatlik iskemi periyodu sonrasında karın açıldı, mikrovasküler klemp kaldırıldı. Aorta distalinde pulsasyonun tekrar başladığı görüldü. Karın katları sıvı kaybını engellemek amacıyla tekrar yaklaştırıldı. Klemp kaldırılmadan, reperfüzyon başlamadan 15 dakika önce 1.5 mg/kg dozunda papaverin HCl (Papaverin HCl® 0.05 g/ 2 ml, Galen İlaç Sanayi ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) infüzyonuna başlandı ve reperfüzyon süresince devam edildi. İnfüzyon kuyruk veninden gerçekleştirildi. Reperfüzyon süresinin sonunda ipek sütürler alınarak batın tekrar açıldı. Sıçanların sol böbrekleri alınarak sakrifiye edildi.

BÖBREK DOKULARININ HİSTOPATOLOJİK İNCELENMESİ

Histopatolojik inceleme için böbrek dokuları ayrı ayrı %10'luk tamponlu nötral formaldehit çözeltisinde fikse edildi. Örneklerden parafin bloklar hazırlandı. Bu parafin

bloklardan mikrotom yardımı ile kesitler alınarak hematoksilen eozin (H+E) ile boyandı. Histopatolojik inceleme ışık mikroskobu ile yapıldı.

Histopatolojik Skorlama

Skorlama yapılırken preparatlarda; glomerüler skleroz, fokal glomerüler nekroz, Bowman kapsülü dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübül epitelinde nekroz, tübüler dilatasyon, interstisyel inflamatuar infiltrasyon, damar konjesyonu, damar duvar kalınlaşması, interstisyel fibrozis değerlendirildi.

Skorlama;

+1: Değişiklik yok

+2: Fokal, hafif

+3: Multifokal, orta

+4: Belirgin, yaygın

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ya da sayı (yüzde) olarak ifade edildi. Verilerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis test kullanıldı. Gruplar arası fark bulunduğunda farklılığın hangileri arasında olduğunu belirlemede Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı. $p<0.05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi. İstatistiksel analizlerde Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalının SPSS 19.0 (Lisans no=10240642) istatistiksel paket programı kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmamızda kontrol grubuna ait böbrek doku kesitlerinin mikroskobik değerlendirmesinde glomerüler skleroz, fokal glomerüler nekroz, bowman kapsülü dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübül epitelinde nekroz, tübüler dilatasyon, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon, damar konjesyonu, damar duvar kalınlaşması ve intertisiyel fibrozis saptanmadı. Histopatolojik skorlama Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Kontrol grubu histopatolojik skorlaması

	Grup I (Kontrol Grubu)							
Denek	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
Glomerüler skleroz	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Fokal glomerüler nekroz	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Bowman kapsülü dilatasyonu	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Tübül epitel dejenerasyonu	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Tübül epitelinde nekroz	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Tübüler dilatasyon	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
İnterstisyel inflamatuvar infiltrasyon	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Damar konjesyonu	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Damar duvar kalınlaşması	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
İntertisiyel fibrozis	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY

DY: Değişiklik yok.

İskemi/reperfüzyon (İ/R) grubuna ait böbrek doku kesitlerinin mikroskobik değerlendirmesinde glomerüler skleroz, fokal glomerüler nekroz, tübül epitelinde nekroz, damar duvar kalınlaşması ve intertisiyel fibrozis saptanmadı. Bowman kapsülü dilatasyonu beş deneğe ait doku kesitinde multifokal-orta, üç denekte belirgin-yaygın olarak saptandı. Tübül epitel dejenerasyonu tüm deneklere ait doku kesitlerinde belirgin-yaygın olarak saptandı. Tübüler dilatasyon dört denekte fokal-hafif, üç denekte multifokal-orta saptanırken bir denekte belirgin-yaygın olarak saptandı. İnterstisyel inflamatuvar infiltrasyon tüm deneklerde fokal-hafif olarak saptandı. Ayrıca mikroskobik değerlendirmede damar konjesyonu bir denekte fokal-hafif, dört denekte multifokal-orta ve üç denekte belirgin-yaygın saptandı.

İskemi/reperfüzyon (İ/R) grubuna ait histopatolojik skorlama Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 3. İskemi/Reperfüzyon grubu histopatolojik skorlaması

	Grup II (İskemi / Reperfüzyon Grubu)							
Denek	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
Glomerüler skleroz	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Fokal glomerüler nekroz	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Bowman kapsülü dilatasyonu	Multifokal, orta	Belirgin, yaygın	Multifokal, orta	Belirgin, yaygın	Belirgin, yaygın	Multifokal, orta	Multifokal, orta	Multifokal, orta
Tübül epitel dejenerasyonu	Belirgin, yaygın	Belirgin, yaygın	Belirgin, yaygın	Belirgin, yaygın	Belirgin, yaygın	Belirgin, yaygın	Belirgin, yaygın	Belirgin, yaygın
Tübül epitelinde nekroz	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Tübüler dilatasyon	Multifokal, orta	Belirgin, yaygın	Multifokal, orta	Multifokal, orta	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif
İnterstisyel inflamatuvar infiltrasyon	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif
Damar konjesyonu	Fokal, hafif	Multifokal, orta	Belirgin, yaygın	Multifokal, orta	Belirgin, yaygın	Multifokal, orta	Multifokal, orta	Belirgin, yaygın
Damar duvar kalınlaşması	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
İntertisiyel fibrozis	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY

DY: Değişiklik yok.

İskemi/reperfüzyon + vitamin C (İ/R+Vit C) grubuna ait böbrek doku kesitlerinin mikroskobik değerlendirmesinde glomerüler skleroz, fokal glomerüler nekroz, tübül epitelinde nekroz, damar duvar kalınlaşması ve intertisiyel fibrozis saptanmadı. Bowman

kapsülü dilatasyonu beş denekte fokal-hafif saptanırken, iki denekte multifokal-orta saptandı, bir denekte ise değişiklik saptanmadı. Tübül epitel dejenerasyonu üç denekte fokal-hafif, dört denekte mutifokal-orta saptandı, bir denekte ise değişiklik saptanmadı. Tübüler dilatasyon yedi denekte fokal-hafif olarak saptandı, bir denekte ise değişiklik saptanmadı. İnterstisyel inflamatuvar infiltrasyon tüm deneklerde fokal-hafif olarak saptandı. Ayrıca deneklere ait böbrek doku kesitlerinin mikroskobik değerlendirmesinde damar konjesyonu üç denekte mutifokal–orta, iki denekte fokal-hafif saptanırken, üç denekte değişiklik saptanmadı.

İskemi/reperfüzyon + vitamin C (İ/R+Vit C) grubuna ait histopatolojik skorlama Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 4. İskemi/Reperfüzyon + Vitamin C grubu histopatolojik skorlaması

	Grup III (İskemi/reperfüzyon + Vitamin C grubu)							
Denek	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
Glomerüler skleroz	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Fokal glomerüler nekroz	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Bowman kapsülü dilatasyonu	Multifokal, orta	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	DY	Multifokal, orta
Tübül epitel dejenerasyonu	Fokal, hafif	Multifokal, orta	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Belirgin, yaygın	Multifokal, orta	Multifokal, orta	Multifokal, orta
Tübül epitelinde nekroz	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Tübüler dilatasyon	Fokal, hafif	Fokal, hafif	DY	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif
İnterstisyel inflamatuvar infiltrasyon	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif
Damar konjesyonu	Fokal, hafif	Multifokal, orta	DY	DY	Multifokal, orta	Multifokal, orta	DY	Fokal, hafif
Damar duvar kalınlaşması	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
İntertisiyel fibrozis	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY

DY: Değişiklik yok.

İskemi/reperfüzyon + papaverin (İ/R+Pap) grubuna ait böbrek doku kesitlerinin mikroskobik değerlendirmesinde glomerüler skleroz, fokal glomerüler nekroz, tübül epitelinde nekroz, damar duvar kalınlaşması ve intertisiyel fibrozis saptanmadı. Bowman kapsülü dilatasyonu altı denekte fokal-hafif saptanırken, iki denekte değişiklik saptanmadı. Tübül epitel dejenerasyonu üç denekte belirgin-yaygın, bir denekte multifokal-orta, dört denekte fokal-hafif saptanmadı. Tübüler dilatasyon tüm deneklerde fokal-hafif olarak

saptandı. İnterstisyel inflamatuvar infiltrasyon yedi denekte fokal-hafif olarak saptanırken, bir denekte değişiklik saptanmadı. Ayrıca deneklere ait böbrek doku kesitlerinin mikroskobik değerlendirmesinde damar konjesyonu bir denekte belirgin-yaygın, üç denkte mutifokal–orta, üç denekte fokal-hafif saptanırken, bir denekte değişiklik saptanmadı.

İskemi/reperfüzyon + papaverin (İ/R+Pap) grubuna ait histopatolojik skorlama Tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 5. İskemi/Reperfüzyon + Papaverin grubu histopatolojik skorlaması

	Grup IV (İskemi-reperfüzyon + Papaverin grubu)							
Denek	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
Glomerüler skleroz	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Fokal glomerüler nekroz	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Bowman kapsülü dilatasyonu	DY	DY	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif
Tübül epitel dejenerasyonu	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Belirgin, yaygın	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Belirgin, yaygın	Multifokal, orta	Belirgin, yaygın
Tübül epitelinde nekroz	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
Tübüler dilatasyon	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif
İnterstisyel inflamatuvar infiltrasyon	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Fokal, hafif	DY
Damar konjesyonu	Fokal, hafif	Multifokal, orta	Belirgin, yaygın	DY	Fokal, hafif	Fokal, hafif	Multifokal, orta	Multifokal, orta
Damar duvar kalınlaşması	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY
İntertisiyel fibrozis	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY	DY

DY: Değişiklik yok.

Kruskal Wallis testi ile dört grup birbiriyle karşılaştırıldı. Gruplar arasında glomerüler skleroz, fokal glomerüler nekroz, tübül epitelinde nekroz, damar duvar kalınlaşması ve intertisyel fibrozis açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Ancak gruplar arasında bowman kapsül dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübüler dilatasyon, interstisyel infilamatuvar infiltrasyon ve damar konjesyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p<0,001$).

Kruskal Wallis testine ait istatistiksel veriler Tablo 6'de verilmiştir.

Tablo 6. Gruplara ait histopatolojik değerlendirme sonuçları

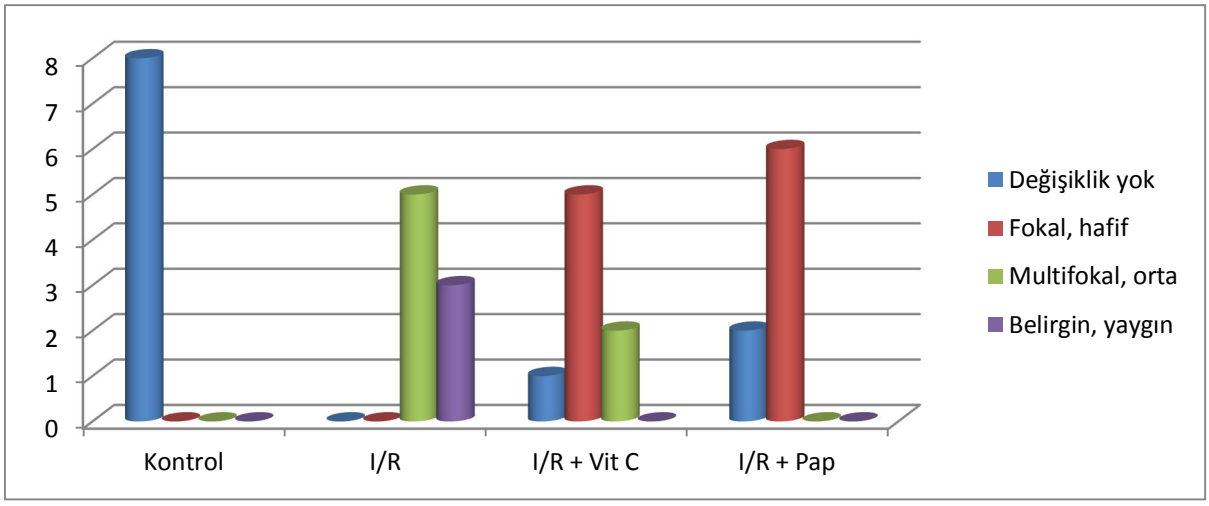
GRUPLAR	Kontrol	İ/R	İ/R+Vit C	İ/R+Pap	*p*
Glomerüler skleroz	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,000
Fokal glomerüler nekroz	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,000
Bowman kapsülü dilatasyonu	1,00±0,00	3,38±0,51	2,13±0,64	1,75±0,46	**<0,001***
Tübül epitel dejenerasyonu	1,00±0,00	4,00±0,00	2,75±0,70	2,88±0,99	**<0,001***
Tübül epitelinde nekroz	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,000
Tübüler dilatasyon	1,00±0,00	2,63±0,74	1,88±0,35	2,00±0,00	**<0,001***
İnterstisyel inflamatuvar infiltrasyon	1,00±0,00	3,25±0,70	2,00±0,92	2,50±0,92	**<0,001***
Damar konjesyonu	1,00±0,00	3,25±0,70	2,00±0,92	2,50±0,92	**<0,001***
Damar duvar kalınlaşması	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,000
İntertisiyel fibrozis	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,000

İ/R: İskemi/reperfüzyon; **İ/R+Vit C:** İskemi/reperfüzyon+Vitamin C; **İ/R+Pap:** İskemi/reperfüzyon+Papaverin
*İstatistiksel olarak anlamlı (p<0,01)

Kruskal Wallis testi kullanılarak gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılıklar saptanan Bowman kapsülü dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübüler dilatasyon, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon ve damar konjesyonuna ait histopatolojik skorlamanın gruplar arasındaki dağılımı grafik olarak gösterilmiştir.

Kontrol grubundaki deneklerin hiçbirinde Bowman kapsül dilatasyonu saptanmadı. İ/R grubundaki beş denekte (%62,5) multifokal-orta ve üç denekte (%37,5) belirgin-yaygın bowman kapsül dilatasyonu saptandı. İ/R+Vit C grubundaki bir denekte (%12,5) değişiklik saptanmazken, beş denekte (%62,5) fokal-hafif ve iki denekte (%25,0) multifokal-orta değişiklik saptandı. İ/R+Pap grubundaki iki denekte (%25,0) değişiklik saptanmazken, altı denekte (%75,0) fokal-hafif bowman kapsül dilatasyonu saptandı.

Bowman kapsül dilatasyonuna ait histopatolojik skorlamanın gruplar arasındaki dağılımı grafik olarak Şekil 6'da gösterilmiştir.

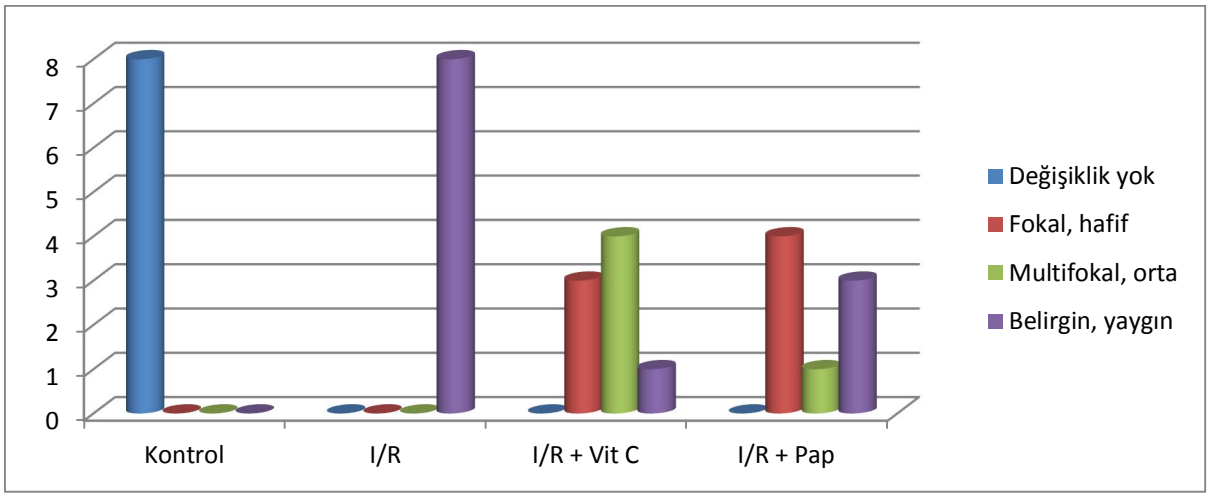


İ/R: İskemi/reperfüzyon; **İ/R+Vit C:** İskemi/reperfüzyon+Vitamin C; **İ/R+Pap:** İskemi/reperfüzyon+Papaverin

Şekil 6. Bowman kapsülü dilatasyonu

Kontrol grubundaki deneklerin hiçbirinde tübül epitel dejenerasyonu saptanmadı. İ/R grubundaki deneklerin hepsinde (%100) belirgin-yaygın tübül epitel dejenerasyonu saptandı. İ/R+Vit C grubundaki üç denekte (%37,5) fokal-hafif, dört denekte (%50,0) multifokal-orta ve bir denekte (%12,5) belirgin-yaygın değişiklik saptandı. İ/R+Pap grubundaki dört denekte (%50) fokal-hafif, bir denekte (%12,5) multifokal-orta ve üç denekte (%37,5) belirgin-yaygın tübül epitel dejenerasyonu saptandı.

Tübül epitel dejenerasyonuna ait histopatolojik skorlamanın gruplar arasındaki dağılımı grafik olarak Şekil 7'de gösterilmiştir.

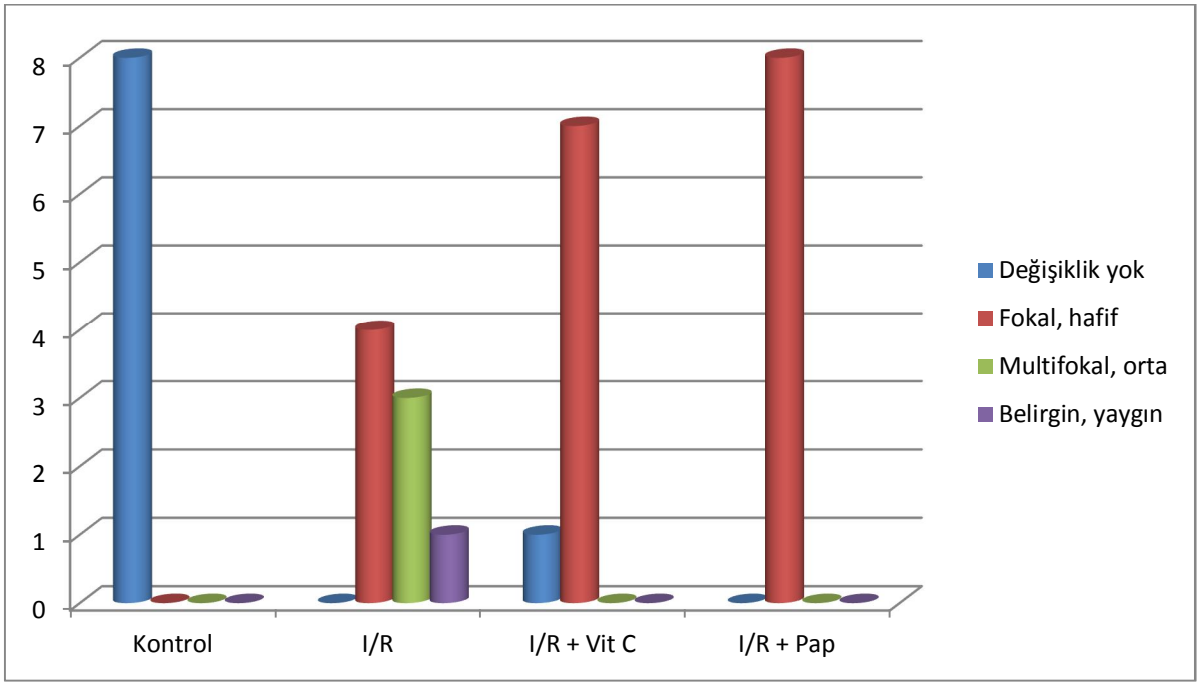


İ/R: İskemi/reperfüzyon; **İ/R+Vit C:** İskemi/reperfüzyon+Vitamin C; **İ/R+Pap:** İskemi/reperfüzyon+Papaverin

Şekil 7. Tübül Epitel Dejenerasyonu

Kontrol grubundaki deneklerin hiçbirinde tübüler dilatasyon saptanmadı. İ/R grubundaki dört denekte (%50) fokal-hafif, üç denekte (%37,5) multifokal-orta ve bir denekte (%12,5) belirgin-yaygın tübüler dilatasyon saptandı. İ/R+Vit C grubundaki bir denekte (%12,5) değişiklik saptanmazken, yedi denekte (%87,5) fokal-hafif değişiklik saptandı. İ/R+Pap grubundaki deneklerin hepsinde (%100) fokal-hafif tübüler dilatasyon saptandı.

Tübüler dilatasyona ait histopatolojik skorlamanın gruplar arasındaki dağılımı grafik olarak Şekil 8'de gösterilmiştir.

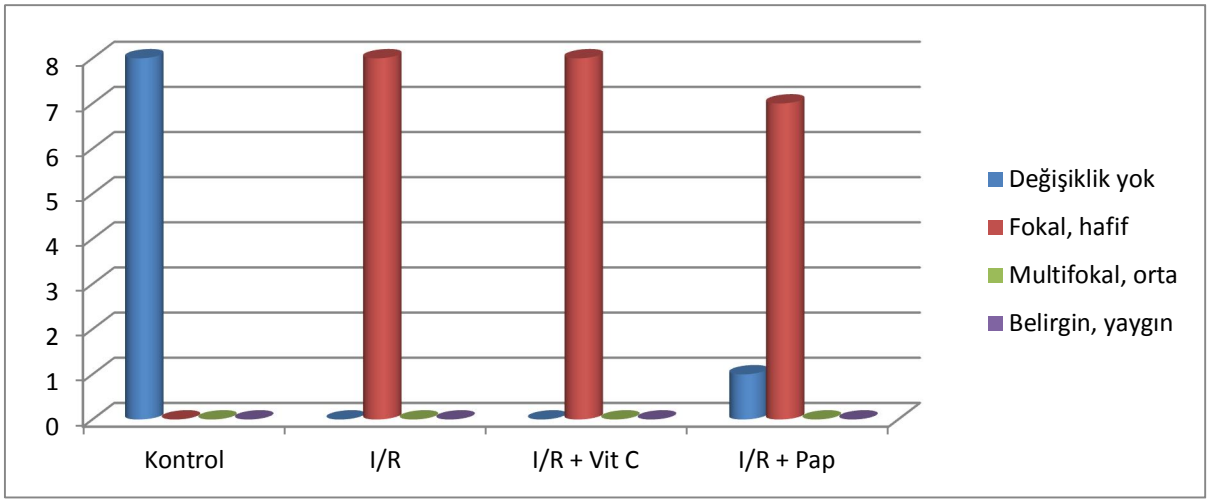


İ/R: İskemi/reperfüzyon; **İ/R+Vit C:** İskemi/reperfüzyon+Vitamin C; **İ/R+Pap:** İskemi/reperfüzyon+Papaverin

Şekil 8. Tübüler dilatasyon

Kontrol grubundaki deneklerin hiçbirinde intertisyel inflamatuvar infiltrasyon saptanmadı. İ/R grubundaki deneklerin hepsinde (%100) fokal-hafif intertisyel inflamatuvar infiltrasyon saptandı. İ/R+Vit C grubundaki deneklerin hepsinde (%100) fokal-hafif değişiklik saptandı. İ/R+Pap grubundaki bir denekte (%12,5) değişiklik saptanmazken, yedi denekte (%87,5) fokal-hafif intertisyel inflamatuvar infiltrasyon saptandı.

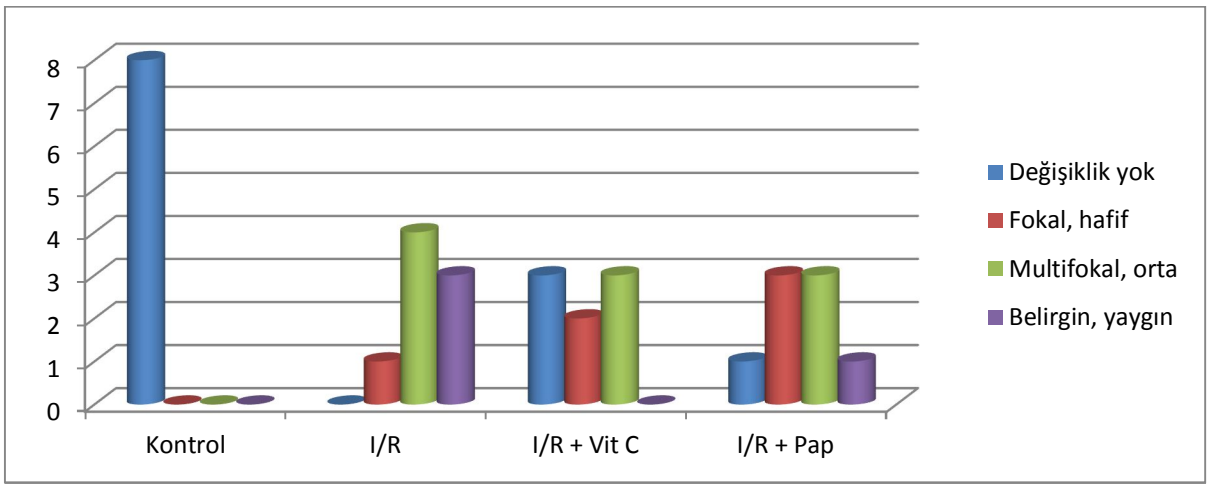
İntertisyel inflamatuvar infiltrasyona ait histopatolojik skorlamanın gruplar arasındaki dağılımı grafik olarak Şekil 9'da gösterilmiştir.



İ/R: İskemi/reperfüzyon; **İ/R+Vit C:** İskemi/reperfüzyon+Vitamin C; **İ/R+Pap:** İskemi/reperfüzyon+Papaverin

Şekil 9. İntertisyel inflamatuvar infiltrasyon

Kontrol grubundaki deneklerin hiçbirinde damar konjesyonu saptanmadı. İ/R grubundaki bir denekte (%12,5) fokal-hafif, dört denekte (%50) multifokal-orta ve üç denekte (37,5) belirgin-yaygın damar konjesyonu saptandı. İ/R+Vit C grubundaki üç denekte (%37,5) değişiklik saptanmazken, iki denekte (%25) fokal-hafif ve üç denekte (%37,5) multifokal-orta değişiklik saptandı. İ/R+Pap grubundaki bir denekte (%12,5) değişiklik saptanmazken üç denekte (%37,5) fokal-hafif, üç denekte (%37,5) multifokal-orta ve bir denekte (%12,5) belirgin-yaygın damar konjesyonu saptandı. Gruplar arasındaki dağılım grafik olarak Şekil 10'da gösterilmiştir.



İ/R: İskemi/reperfüzyon; **İ/R+Vit C:** İskemi/reperfüzyon+Vitamin C; **İ/R+Pap:** İskemi/reperfüzyon+Papaverin

Şekil 10. Damar konjesyonu

İkili gruplar arası istatistiksel değerlendirmede Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı ve p<0.05 değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi. Sonuçlar Tablo 7'de gösterilmiştir.

Böbrek doku kesitlerinde glomerüler skleroz, fokal glomerüler nekroz, tübül epitelinde nekroz, damar duvar kalınlaşması ve intertisyel fibrozis saptanmadığı ve Kruskal Wallis testinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık tesbit edilemediği için değerlendirmeye alınmadı.

Tablo 7. İkili gruplar arası istatistiksel analiz

	Bowman kapsülü dilatasyonu	**Tübül epitel dejenerasyonu**	**Tübüler dilatasyon**	**İnterstisyel inflamatuvar infiltrasyon**	**Damar konjesyonu**
Kontrol - I/R	***p*<0,0083***	***p*<0,0083***	***p*<0,0083***	***p*<0,0083***	***p*<0,0083***
Kontrol- I/R+Vit C	***p*=0,001***	***p*<0,0083***	***p*=0,001***	***p*<0,0083***	***p*=0,010***
Kontrol- I/R+Pap	***p*=0,003***	***p*<0,0083***	***p*<0,0083***	***p*=0,001***	***p*=0,001***
I/R - I/R+Vit C	***p*=0,003***	***p*=0,001***	***p*=0,021***	*p*=1,000	***p*=0,015***
I/R - I/R+Pap	***p*<0,0083***	***p*=0,010***	***p*=0,027***	*p*=0,317	*p*=0,095
I/R+VitC- I/R+Pap	*p*=0,199	*p*=0,866	*p*=0,317	*p*=0,317	*p*=0,320

İ/R: İskemi/reperfüzyon; **İ/R+Vit C:** İskemi/reperfüzyon+Vitamin C; **İ/R+Pap:** İskemi/reperfüzyon+Papaverin
*İstatistiksel olarak anlamlı (p<0,05)

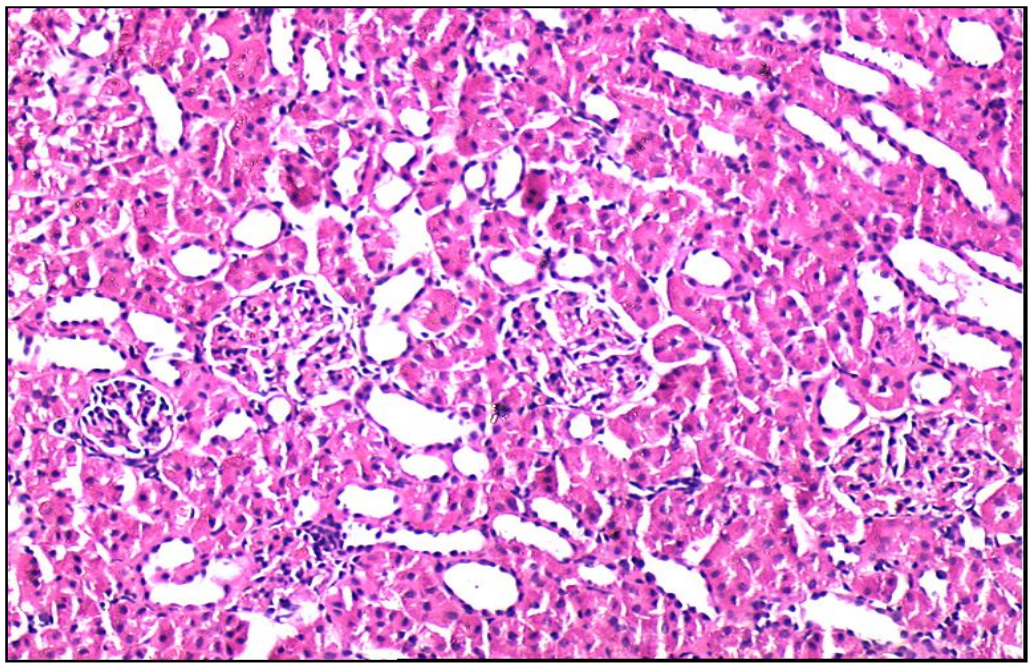
İskemi/reperfüzyon + Vit C grubu ile iskemi/reperfüzyon grubu karşılaştırıldığında; interstisyel inflamatuvar infiltrasyon (p=1,000) için istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Ancak iki grup arasında; Bowman kapsülü dilatasyonu (p=0,003), tübül epitel dejenerasyonu (p=0,001), tübüler dilatasyon (p=0,021) ve damar konjesyonu (p=0,015) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu.

İskemi/reperfüzyon + papaverin grubu ile iskemi/reperfüzyon grubu karşılaştırıldığında; interstisyel inflamatuvar infiltrasyon (p=0,317) ve damar konjesyonu (p=0,095) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Ancak iki grup arasında; Bowman kapsülü dilatasyonu (p<0,0083), tübül epitel dejenerasyonu (p=0,01), tübüler dilatasyon (p=0,027) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu.

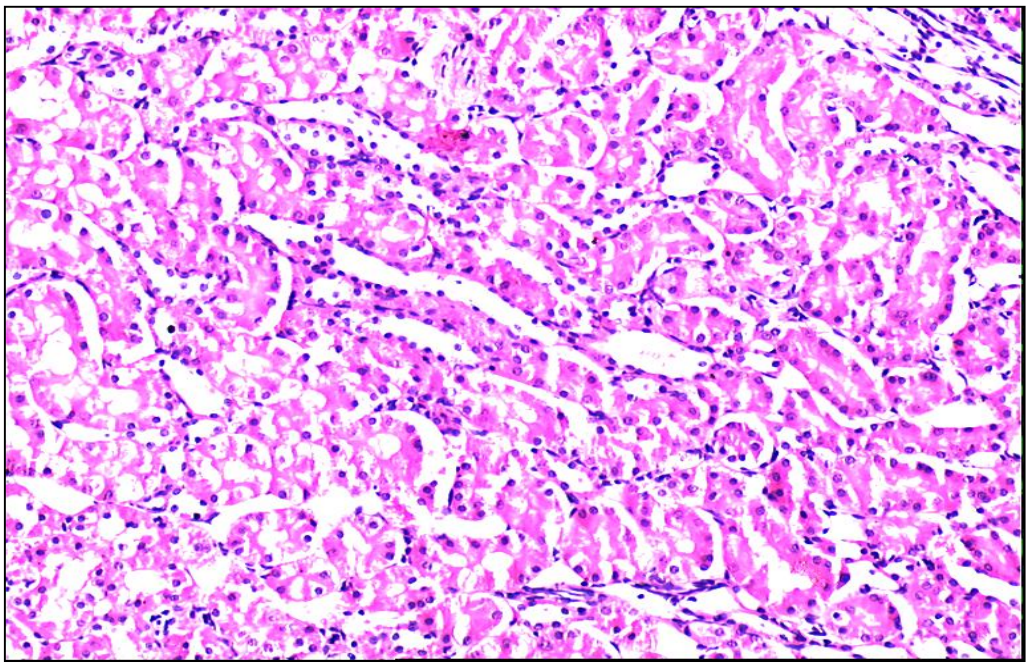
İskemi/reperfüzyon + Vit C grubu ile iskemi/reperfüzyon + Papaverin grubu karşılaştırıldığında; Bowman kapsülü dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübüler

dilatasyon, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon ve damar konjesyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

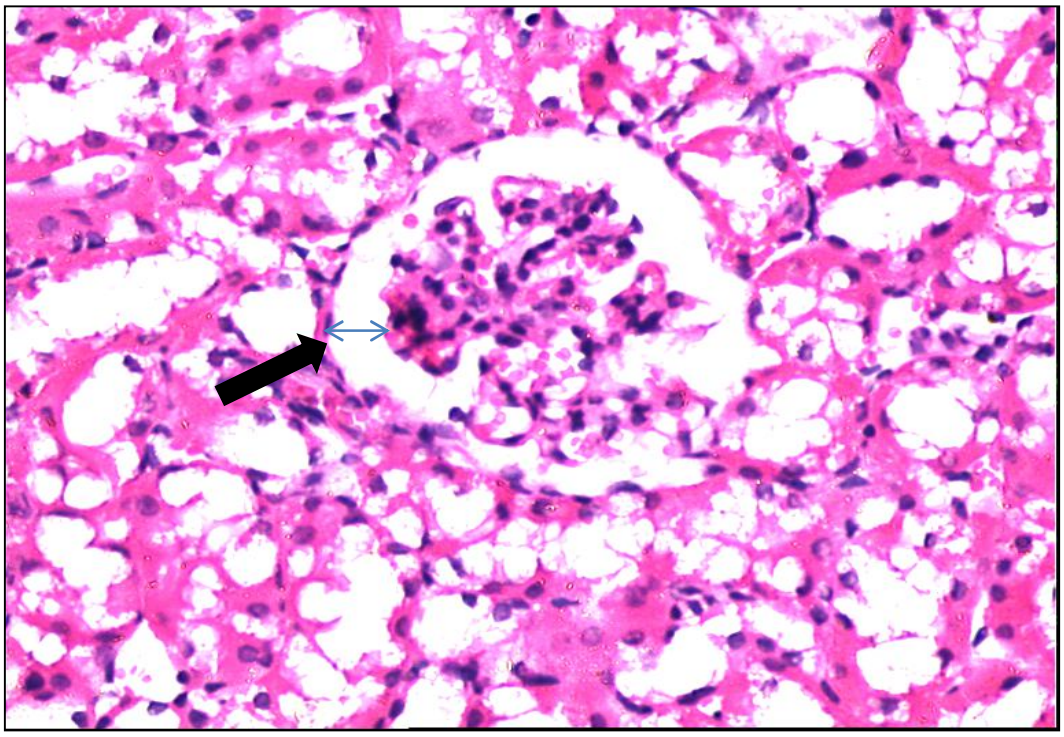
Böbrek doku kesitlerine ait histopatolojik kesitler Şekil 11-18'de verilmiştir.



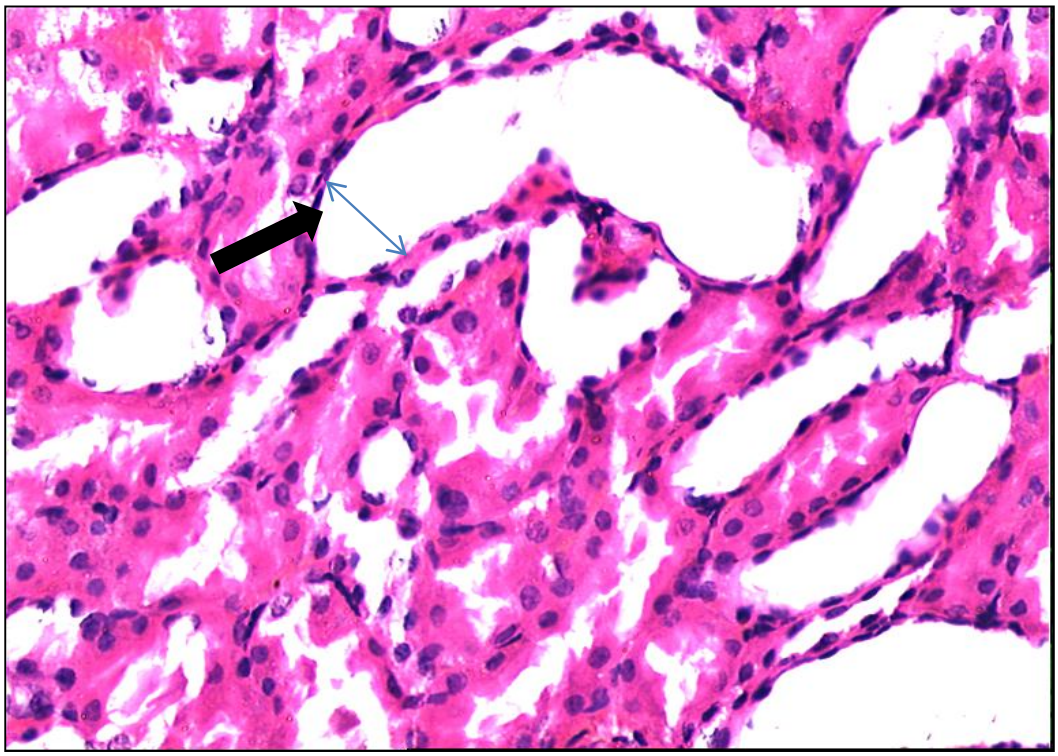
Şekil 11. Normal böbrek dokusu, kontrol grubu (HEX100)



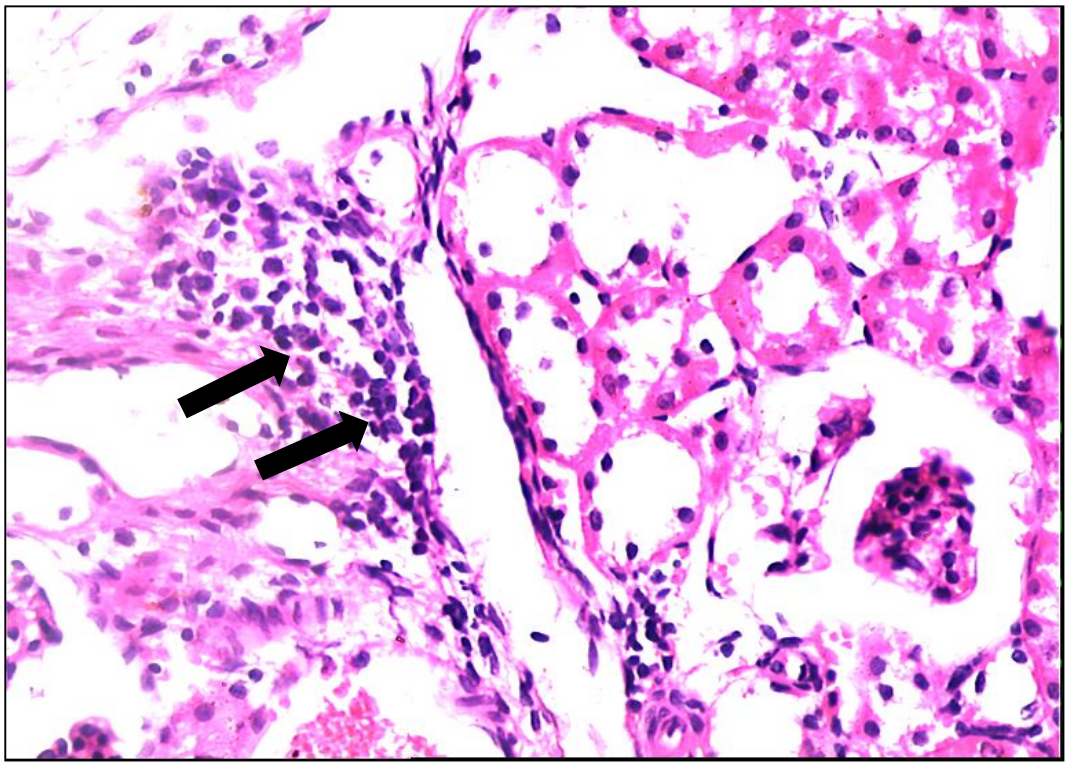
Şekil 12. İskemi/reperfüzyon grubunda belirgin tübül epitel dejenerasyonu (HEX100)



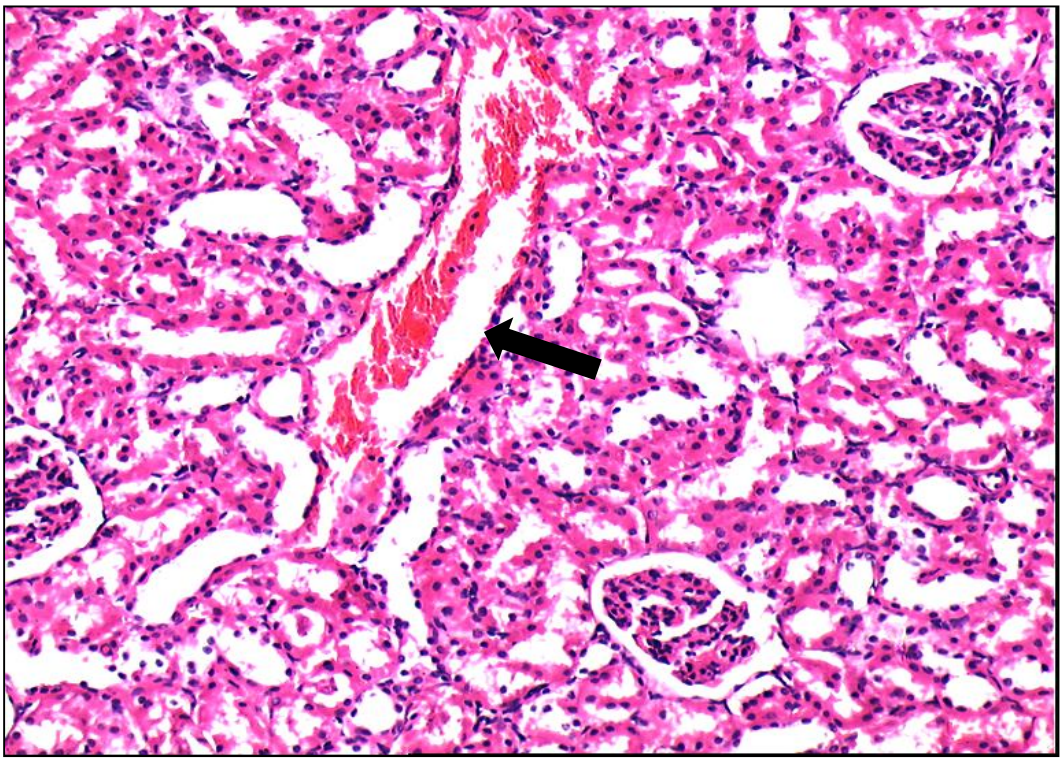
Şekil 13. İskemi/reperfüzyon grubunda belirgin Bowman kapsülü dilatasyonu (HEX200)



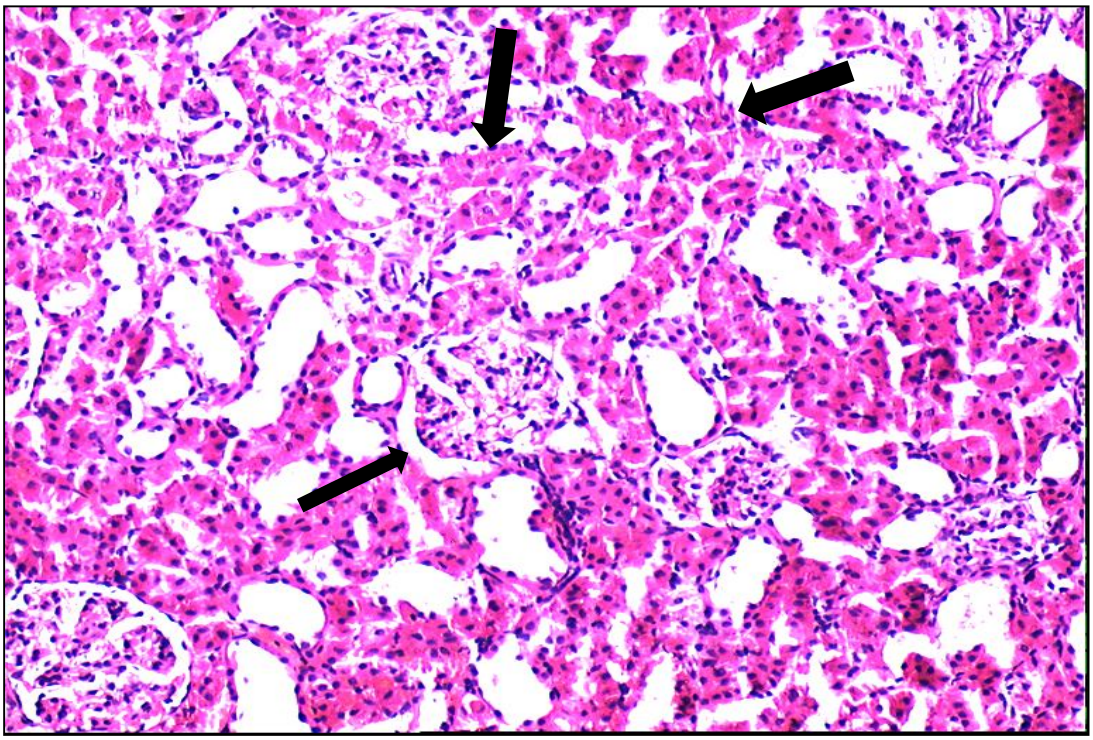
Şekil 14. İskemi/reperfüzyon grubunda belirgin tübüler dilatasyon (HEX200)



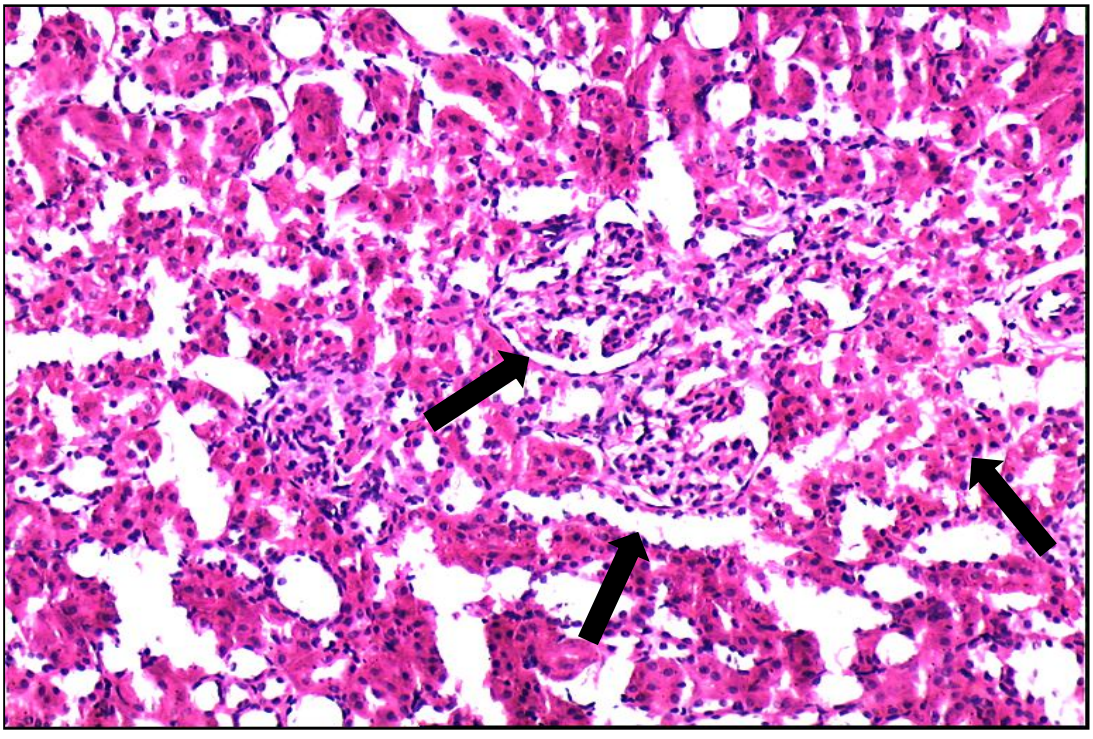
Şekil 15. İskemi/reperfüzyon grubunda interstisiyel inflamatuar infiltrasyon (HEX200)



Şekil 16. İskemi/reperfüzyon grubunda belirgin damar konjesyonu (HEX100)



Şekil 17. İskemi/reperfüzyon+Vitamin C grubunda minimal Bowman kapsülü dilatasyonu ve hafif tübül epitel dejenerasyonu (HEX100)



Şekil 18. İskemi/reperfüzyon+Papaverin grubunda minimal tübüler dilatasyon, hafif tübül epitel dejenerasyonu, minimal Bowman kapsül dilatasyonu (HEX100)

TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, sıçan infrarenal abdominal aortasına klemp konularak alt ekstremitelerde iskemi yaratıp, reperfüzyon sonrası, böbreklerde oluşan iskemi/reperfüzyon hasarına C vitamini ve papaverinin etkilerini araştırmaktır.

Ekstremite iskemisi periferik vasküler cerrahi, aort cerrahisi, ekstremitelerin reimplantasyonu, crush yaralanmalar, periferik vasküler yaralanmalar ya da akut arteriyel tıkanıklıklar sırasında karşılaşılan bir durumdur (54).

Akut ekstremite iskemisi kollaterallerin gelişmiş olduğu kronik ateroskleroz varlığında bile ciddi mortalite ve morbiditeye yol açabilen klinik bir sorundur. Ekstremitenin reperfüzyonu tam olarak sağlansa bile ekstremite kaybına, akut böbrek ve solunum yetmezliğine yol açabilir. Kalp, bağırsak, beyin, dalak gibi dokularda fonksiyon bozukluğu gelişebilir. Cerrahi müdahalenin gecikmesi bu riskleri daha da artırır (54).

Alt ekstremite dolaşımının kesilmesi sonucu ilk saptanan değişiklik kapiller lümendeki hücrelerde görülmektedir. Hücre membranları kapiller lümene doğru parmak şeklinde çıkıntılar ve sitoplazma içine doğru invaginasyonlar oluşturmaktadır. İskeminin uzaması ile birlikte endoteliyal veziküllerde artış saptanır. Endotel hücrelerde ödem meydana gelir. Kapiller lümen içine esas olarak eritrositler daha az olarak da lökosit ve trombositleri içeren yapılar birikir. Bu yapılar özellikle iskemi süresinin 4 saat ve daha fazla olduğu durumlarda gelişmektedir. İskemi süresinin uzadığı ve reperfüzyonun henüz başlamadığı durumlarda kapiller ve venüller eritrositler ile dolarak sıkışmakta ve endotel yüzeyi ile birleşmektedir. Reperfüzyonun erken safhasında eritrositler sıkışmakta ve endoteliyal yüzey deforme olmaktadır. Endotel bağlantıları ve sitoplazması bozulmaktadır. İskemi süresi dört saat veya daha uzun olan reperfüzyon olaylarında trombolitik etkileşimler daha ön plana

çıkmaktadır ve postkapiller venüllerde plateletlerin oluşturdukları lümen içi yapılar görülmektedir. Burada nadiren fibrin yapıları da görülmektedir. Büyük venüllerde ve küçük venlerde kapiller duvara lökositlerin yapıştığı ve bu hücrelerin bir kısmının ekstravasküler mesafeye geçtiği saptanmıştır. Kapiller seviyede lenfosit ve monosit gibi lökositler birikmektedir (1,55). Mikrosirkülasyonda oluşan bu değişiklikler plazma proteinlerine karşı permeabiliteyi arttırır ve ilerleyici interstisyel ödeme yol açar (1,56,57).

İskelet kası büyük kütle olması ve iskemik hasara en hassas dokulardan olması nedeniyle alt ekstremite iskemi/reperfüzyon hasarında önemli rol oynar. Reperfüzyon hasarında prognoz kas hasarı miktarına bağlıdır (36).

Akut ekstremite iskemisini takiben ekstremitenin yeniden perfüzyonu şiddetli lokal doku hasarı ve sistemik komplikasyonları beraberinde getirmektedir. Buna bağlı ölüm oranı %25-50, ampütasyon ise %15-40 olarak belirtilmiştir (58). Bunun nedeni iskeminin kendisinden çok reperfüzyon anında ortaya çıkan toksik metabolitlerdir. İskemi/reperfüzyon hasarındaki temel mekanizma iskemi sonrası reperfüzyon olduğunda dokulara oksijenin ulaşması ile serbest oksijen radikallerinin oluşmasıdır. Oluşan serbest oksijen radikalleri, hasarlanmış hücre membranındaki yağ asit radikalleri ile etkileşerek lipid peroksidasyon reaksiyonu oluşturur ve malondialdehit seviyeleri artar. Ayrıca endojen tümör nekroz faktörü, interlökin 8, elastaz, antitripsin seviyelerinde artış görülmesi nötrofil ve makrofaj aktivasyonuna sekonder olarak gerçekleşir. Sonuçta majör organlarda mikrovasküler endotel hasarına bağlı geçirgenlik artışı, trombosit agregasyonu ve nekroz alanları oluşmaktadır (58). Öte yandan Hardy ve ark. (59) akut alt ekstremite iskemi modeliyle yaptıkları çalışmalarında, reperfüzyon sonunda düşük reflow'un nedenini iskemiye bağlı vazokonstriksiyon, nötrofil agregasyonu, endotel kaynaklı relaksan faktörün oksijen radikalleri tarafından ortadan kaldırılmasına bağlamışlardır.

İnflamasyonun süresi ve uyaranın tipine göre, hasarlanmış dokuda biriken hücre tipi değişir. İskemi reperfüzyon hasarında hasarlanmış dokuda biriken inflamatuvar hücre tipi ilk 6-24 saat nötrofiller iken, 24-48 saat sonra monositler baskın hale geçerler. Dolayısıyla hasarlanmış dokuda akut dönemde nötrofil, kronik dönemde monosit hakimiyeti vardır (10).

Reperfüzyona bağlı hasarın karakteristik özellikleri; hücresel şişme, hücre iskeleti değişiklikleri ve seçici mikrovasküler geçirgenlik kaybıdır. Bu mekanizmalar doku ödemi ve kapiller kan akımında azalmaya neden olur (60). Bizim çalışmamız da bu bilgilerle paralellik göstermiş tespit ettiğimiz Bowman kapsülü dilatasyonu, tübüler dilatasyon, tübül

epitel dejenerasyonu ve damar konjesyonu, doku ödemi ve kapiller kan akımında azalma sonucu meydana gelmiştir.

Özellikle infrarenal aortaya klemp yerleştirilmesiyle oluşan alt ekstremite iskemi reperfüzyon sonrası oluşan uzak organ hasarında böbrekler hedef organdır. Böbrekler aortadan köken aldıkları renal arterler ile kanlanır. 70 kilogramlık normal bir insanda her iki böbreğe giden kanın miktarı dakikada 1200 ml ve kalp debisinin %21'i kadardır. İnfrarenal seviyeden aortaya kros klemp konulması sonrası renal ve vasküler dirençte ve renal kan akımında %30'luk bir düşme görülür. Klemp kaldırıldıktan sonrada, renal hemodinamik bozukluk devam etmektedir (61). İnfrarenal abdominal aort cerrahisi geçiren hastalarda operasyondan altı ay sonra dahi renal plazma akımı ve glomerüler filtrasyon oranında anlamlı derecede düşüklük bulunmuştur (62).

Böbrek damarları özellikle sempatik sinir liflerinden zengindir ve sempatik sinirlerin aktivasyonu, böbrek arteriollerini daraltabilir, böbrek kan akımı ve glomerüler filtrasyon hızını azaltabilir. Bu savunma reaksiyonu böbrek medullasından epinefrin ve norepinefrin salgılanması aracılığı ile olur. Böbrek damarlarının hasar görmüş endotel hücrelerinden ise endotelin salınır. Bu da glomerüler filtrasyonu azaltır ve böbrek vazokonstriksiyonuna katkıda bulunur (49,63).

İskemi/reperfüzyon hasarı öncelikle böbreğin hipoksiye duyarlı kısmı olan renal medulladan başlar (64). Renal hasar öncelikle tübülüslarda oluşur. Bunun nedeni iskemiye bağlı gelişen tübüler nekrozdur. Reperfüzyonla birlikte 1-2 hafta içinde tübül fonksiyonları normale dönmektedir (65).

Hayvan deneyleri, hücre ve doku kültürü ile biyokimyasal alanda yapılmış olan birçok çalışma, yeniden oksijenlenmenin zararlı etkileri sonucunda meydana gelen SOR miktarının aşırı derecede artış gösterdiğini, bu durum karşısında da vücutta yer alan SOR tutucu antioksidan savunma mekanizmasının yetersiz kaldığını ve sadece reperfüze olan dokunun yanında tüm vücut organlarını da etkileyebileceğini göstermiştir (66).

Sağlıklı bireylerde normal metabolizma sonucunda oluşan serbest oksijen radikalleri vücudun savunma mekanizması olan antioksidan enzim sistemiyle uzaklaştırılır ve oksijen radikalleri, antioksidan savunma mekanizması ile denge halindedir. Bu denge serbest radikallerin lehine bozulursa oksidatif stres oluşur (67).

Süperoksit radikali, normal hücre metabolizmasında membran elektron transportu sırasında oluşan bir ara üründür. İskemik koşullarda ise, hipoksantin ve ksantin katabolizması sırasında ksantin oksidaz katalizörlüğünde bir reaksiyon ile oluşur. Süperoksit radikalinden

SOD katalizörlüğünde H_2O_2 oluştuktan sonra, H_2O_2 katalaz ve glutatyon peroksidaz katalizörlüğünde H_2O ve CO_2'ye dönüştürülerek inaktive edilir. Bu basamakta; SOR'a karşı savunma ve en önemli hücre içi antioksidan enzim sistemleri SOD, katalaz ve glutatyon peroksidazdır (66).

Serbest oksijen radikalleri aracılığı ile oluşan iskemi/reperfüzyon hasarı lipid peroksidasyonu ile de ilişkilidir. Serbest oksijen radikalleri sadece DNA ve protein düzeyinde zararlı etki göstermemekte, aynı zamanda fosfolipid ve poliansature yağ asitlerini içeren hücre membranında geçirgenliği bozarak, hücre içi kalsiyum birikimi ve hücre ölümüne neden olmaktadır (66).

Reperfüzyon sonrası iskemik dokuya olan sürekli inflamatuvar hücre göçü, iskemi reperfüzyon hasarına bağlı doku hasarının devamını ve genişlemesini sağlar. Proteolitik enzim (elastaz) ve serbest oksijen radikalleri sentez ve kapiller seviyede mikrodolaşım tıkanıklığı ile hasara katkıda bulunurlar (68).

Bazı deneysel çalışmalarda antioksidanların, antitromboksanların, antilökotrienlerin ve antiplatelet aktive edici faktörlerin reperfüzyonun sistemik etkilerinden korunmak amacıyla kullanılabileceği gösterilmektedir (36).

Günümüzde iskemi-reperfüzyon sonrasında ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için süperoksit dismutaz, allopürinol, katalaz, mannitol, vitamin C, alfa tokoferol, L-karnitin, pentoksifilin gibi çeşitli maddeler tedavide denenmiş ve etkili oldukları gösterilmiştir. Bu antioksidan maddelerin ya mikrovasküler permeabilite artışı ve nötrofil akümülasyonunu önleyerek ya da antioksidan sistemi aktive etmek suretiyle, iskemi reperfüzyon sonrasında ortaya çıkan uzak doku organ hasarına koruyucu etkiye sahip oldukları gösterilmiştir (54).

Histamin, trombosit aktive edici faktör, lökotrien B4 ve TNF-α gibi aracı inflamatuvar maddelerin sentezi ve reseptör etkileşimlerinin engellenmesi, iskemi reperfüzyon hasarında fayda sağlamıştır. Aspirin, glukokortikoidler, altın ve D-penisilamin gibi antiinflamatuvar ilaçların lökosit adezyon molekülü sentezi ve sitokin oluşumunu azalttıkları gösterilmiştir (40,69).

Çok sayıda deneysel hayvan çalışmalarında E vitamini, N-asetil-sistein, allopurinol, demir şelatörleri, kalsiyum kanal blokerleri, anjiotensin konverting enzim inhibitörleri, katalaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidanların tedavide etkinlikleri gösterilmiştir (70).

Yine birçok hayvan deneyinde kompleman sistem aktivasyonunun engellenmesi ile iskemi/reperfüzyon hasarının azaltıldığı gösterilmiştir (70). C5 için spesifik humanize edilmiş

rekombinant tek zincir antikorun kardiyopulmoner bypass ile koroner bypass ameliyatı geçirenlerde kompleman aktivasyonunu, lökosit aktivasyonunu, miyokard hasarını ve kan kaybını azalttığı gösterilmiştir (71).

Bahsedilen birçok tedavi modeli deneysel aşamada olup, insanlardaki klinik kullanımına ait bilgiler henüz yetersizdir.

Deneysel alt ekstremite iskemi reperfüzyon hasarının böbreğe verdiği zarar sıçanlarda çok iyi belirlenmiş ve çalışmaların çoğunda sıçanlar tercih edilmiştir (72,73). Bu bilgiler ışığında bizde çalışmamızda S.Dawley cinsi dişi sıçanlar kullandık.

Böbreklerde deneysel iskemi reperfüzyon hasarının etkilerinin ortaya çıkması için belli bir iskemi süresine gerek vardır. Sıçan böbreğinde Paller ve ark. (74) ile Döşlüoğlu ve ark. (75) 60 dakikalık iskemi süresinden sonra reperfüzyon hasarının ortaya çıktığını göstermişlerdir. Çalışmalarında renal korteks homojenatlarında malondialdehit seviyelerinin yükseldiğini tespit etmişlerdir. Bizde çalışmamızda reperfüzyon hasarını gösterebilmek için 60 dk iskemi ve 120 dk reperfüzyon süresi uyguladık.

Serbest radikallerin reperfüzyon sonrası 15-20 sn içinde hızla oluştukları gösterildiğinden, reperfüzyon hasarını azaltmak amacıyla radikal yakalayıcı kullanılacak ise bunun reperfüzyondan 15 dakika önce verildiğinde efektif olduğu, reperfüzyondan sonra verildiği taktirde hiçbir önleyici özelliğinin olmadığı bilinmektedir (1,76). Bizde aortadaki klemp kaldırılmadan 15 dakika önce vitamin C ve papaverin infüzyonuna başlayarak çalışmamızın efektif olmasını sağlamaya çalıştık.

İskemi/reperfüzyon hasarına bağlı gelişen uzak organ hasarına C vitaminin etkileri üzerine birçok çalışma yapılmıştır (68,77-78). Sıçanlarda parasetamole, arseniğe, cisplatine ve vankomisine bağlı nefrotoksite modellerinde C vitamininin oksidatif hasarı önleyerek nefron fonksiyonlarını koruyucu etkileri gösterilmiştir (79-82). Papaverinin vazodilatatör etkinliği üzerine çok sayıda çalışma yapılmış olmasının yanında iskemi/reperfüzyon hasarına bağlı gelişen uzak organ hasarına yönelik çalışmalar son derece kısıtlıdır (83-86). Çalışmamızda iskemi/reperfüzyona bağlı böbrek hasarına, antioksidan özellikleri bilinen C vitaminin ve fosfodiesteraz aktivitesini inhibe ederek cAMP'nin vazodilatatör etkisini artırdığı bilinen papaverinin etkilerini araştırmayı hedefledik.

Çalışmamızda histopatolojik incelemede glomerüler skleroz, fokal glomerüler nekroz, tübül epitelinde nekroz, damar duvar kalınlaşması ve intertisyel fibrozis hiçbir grupta saptanmadı. İskemi reperfüzyon grubunda %62,5 multifokal-orta (+3) ve %37,5 belirgin-yaygın (+4) Bowman kapsülü dilatasyonu tespit edildi. %100 oranda belirgin-yaygın (+4)

tübül epitel dejenerasyonu; %50 fokal-hafif (+2), %37,5 multifokal-orta (+3) ve %12.5 belirgin-yaygın (+4) tübüler dilatasyon saptandı. Ayrıca % 100 oranda fokal-hafif (+2) interstisyel inflamatuvar infiltrasyon ve %12,5 fokal-hafif (+2), %50 multifokal-orta (+3), %37,5 belirgin-yaygın (+4) oranda damar konjesyonu tespit edildi. Gülmen ve ark. (66) ile Kiriş ve ark. (87) tarafından yapılan benzer çalışmada iskemi/reperfüzyon grubuna ait böbrek doku kesitlerinin mikroskobik değerlendirmesinde fokal glomerüler nekroz, Bowman kapsülü dilatasyonu, tübüler epitel dejenerasyonu, tübül epitelinde nekroz, tübüler dilatasyon, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon ve damar konjesyonu; ayrıca iskemi/reperfüzyon grubunda malondialdehit, SOD, katalaz ve myeloperoksidaz seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı artış saptamışlardır. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler diğer yapılmış çalışmalarla benzerlik göstermiş olup, iskemi/reperfüzyon grubu verileriyle kontrol grubunu karşılaştırdığımızda histopatolojik olarak anlamlı farklılıkların olduğunu tespit ettik.

Çalışmamızda karşılaştırdığımız gruplar arasında Bowman kapsülü dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübüler dilatasyon, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon ve damar konjesyonu açısından anlamlı farklılıklar mevcuttu.

C vitamini, suda eriyen endojen kaynaklı bir antioksidandır. Hücre içi Ca^{+2} birikimini ve SOR hasarını baskılayarak reperfüzyon hasarını azaltır. Membran içindeki ve ekstraselüler sıvılardaki lipid peroksidasyonunu önler, süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onları ortamdan temizler. Böylece güçlü indirgeyici etkisiyle serbest oksijen radikallerini ortamdan kaldırarak, sebep oldukları hasarı da önler (68,77,88).

Ambali ve ark. (89) tarafından sıçanlarda yapılan bir çalışmada, organofosfat olan ve tarımcılıkta kullanılan klorprifosunun, lipid peroksidasyonunda artışa, hematolojik parametrelerde bozulmaya ve biyokimyasal parametrelerde (alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalen fosfataz, üre, kreatinin) artışa yol açtığını ortaya koymuştur. Çalışmaya C vitamini eklendiğinde, klinik, hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde düzelme sağlanmıştır. Bu iyileştirici etkinin antioksidan etki yanında küçük moleküler antioksidanların (α-tokoferol, glutatyon, ürat, β-karoten) rejenerasyonuna katkıda bulunmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Başka bir çalışmada cisplatin aracılı nefropati geliştirilmiş, cisplatinden hemen önce uygulanan değişik dozlarda C vitaminin malondialdehit düzeylerini azalttığı ve glutatyon düzeylerini anlamlı olarak düzelttiği gösterilmiştir. Bu olumlu etkinin yüksek doz C vitamini uygulanan grupta daha belirgin olduğu gösterilmiştir (79).

Salman ve ark. (88) açık kalp cerrahisi sırasında serbest oksijen radikali temizleyicisi olan askorbik asitin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; ürik asit miktarının vitamin C verilen grupta azaldığını tespit etmişlerdir. Bunu C vitamininin adenin nükleotidlerin degredasyonunu azaltıcı etkisinden kaynaklandığı sonucuna varmışlardır. Kreatinin fosfokinaz değerini kontrol grubuna göre düşük olduğunu tespit etmişler, bununda hücre hasarını azaltıcı etkisinden kaynaklandığını göstermişlerdir. Ayrıca malondialdehitin azaldığı, glutatyonun arttığı bununda askorbik asidin serbest oksijen radikali temizleyici etkisinin bir sonucu olduğu görüşüne varmışlardır. Mikrovasküler endotelyal hücrelerin kullanıldığı bir hücre kültürü çalışmasında, hiperglisemik ortam sağlanarak oksidatif stres meydana getirilmiş, C ve E vitamini kullanılan grupta, prooksidan/antioksidan enzim sistemlerindeki değişikliklerle koroner endotelyal hücreleri koruyucu özellik gösterilmiştir (90). Başka bir çalışmada da, vitamin C'nin alt ekstremite iskemi reperfüzyona bağlı iskelet kası hasarını azalttığı gösterilmiştir (78). Berkan ve ark. (77) tarafından deneysel alt ekstremite iskemi reperfüzyon modeliyle yapılan çalışmada; vitamin C'nin reperfüzyonun akciğer hasarı üzerine etkileri araştırılmıştır. Askorbik asitin membran içindeki ve ekstraselüler sıvılardaki lipid peroksidasyonunu önlediği, süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek ortamdan temizlediği ve böylece hücre içi Ca^{+2} birikimini ve SOR hasarını baskılayarak reperfüzyon hasarını azaltabildiği gösterilmiştir. Yine Berkan ve ark. (68) tarafından yapılan farklı bir çalışmada iskemi reperfüzyon sonrası vitamin C verilen sıçanların akciğerinde kontrol grubuna göre polimorfonükleer lökosit, ödem ve konjesyonda azalma olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda C vitamini verilen grupta Bowman kapsülü dilatasyonu, tübül epitel dejenarasyonu, tübüler dilatasyon ve damar konjesyonunda anlamlı azalma olduğu ancak interstisyel inflamatuvar infiltrasyonda değişiklik olmadığını tespit ettik.

Elde ettiğimiz sonuçlar yapılmış diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir. C vitamininin güçlü indirgeyici etkisiyle serbest oksijen radikallerini temizlemesinin yanı sıra, küçük moleküler antioksidanların rejenerasyonuna katkıda bulunması, lipid peroksidasyonunu önlemesi, hücre içi Ca^{+2} birikimini ve SOR hasarını baskılayarak hücre hasarını azaltıcı etki göstermesi ile böbreklerdeki iskemi/reperfüzyona bağlı hasarın önlenmesinde faydalı olabileceğini göstermektedir. İnterstisyel inflamatuvar infiltrasyonda değişiklik saptanmamasının C vitamininin uygulanan dozuyla ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Vitamin C'nin membran içindeki ve ekstraselüler sıvılardaki lipid peroksidasyonunu önlediği, süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onları ortamdan

temizlediği, böylece hücre içi Ca^{+2} birikimini ve SOR hasarını baskılayarak reperfüzyon hasarını azaltabildiği birçok çalışmada tespit edilmiştir. Tüm bunlara ek olarak C vitamininin endotel koruyucu etki meydana getirerek iskemi/reperfüzyon sonrası böbrek hasarını azatmada etkili olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızın sonuçları bu verilerle paralellik göstermektedir.

Nitrik oksitin böbreklerde iskemi reperfüzyona bağlı hasarda potansiyel koruyucu etkisi olduğu kabul edilmektedir. Bu koruyucu etkisini anjiotensin, katekolaminler ve endotelin'in vazokonstrüktör etkilerini, vazodilalatasyon yaparak ortadan kaldırmasıyla açıklanabilmektedir. Endotel, mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan ET ve NO'nun ana kaynağıdır. Arteriyel dolaşımda ET'in vazokonstriktör etkisini NO tersine çevirir. Venlerde ise bu durumun tam tersi söz konusudur. İskemi reperfüzyon hasarında ET/NO oranı ET lehine bozulur. Arteriyel vazokonstriksiyon, venlerde vazodilatasyon ile sonuçlanır (19). Ünal ve ark. (91) sıçanlarda iskemi reperfüzyon hasarında eksojen verilen nitrik oksitin belirgin koruyucu özellik taşıdığını saptamışlardır. Chatterjee ve ark. (92) iskemi reperfüzyon hasarında böbrek fonksiyon bozukluklarının İNOS aktivitesinin baskılanarak azaltılabileceğini bildirmişlerdir. Papaverin de fosfodiesteraz aktivitesini inhibe ederek cAMP'nin vazodilatatör etkisini arttırır (83,84).

Papaverinin vazodilatatör etkisini kanıtlayan çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Kerschner ve Futran (93) tarafından yapılan bir çalışmada, sıçan modelinde topikal vazodilatatör ilaçların mikrovasküler damar çapı üzerindeki etkisine bakılmıştır. Sıçanlarda papaverin ve lidokain etkileri karşılaştırılmış, her ikisininde salin grubuna göre üstün olduğu, etkinin 10 dakikanın üzerinde belirginleştiğini bildirmişlerdir. Mert ve ark. (84) topikal ve intralüminal papaverin uygulamasıyla internal torasik arter akımına etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; bir fosfodiesteraz inhibitörü olan papaverinin vazodilatatör etkisiyle, her iki gruptada internal torasik arter akımında belirgin artış olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan bir çalışmada ortopedik travma ile birlikte damar yaralanması olan olgular geriye dönük incelenmiş; suprakondiler humerus kırığı saptanan üç pediatrik olgu operatif olarak adventisyel hematom saptanmasına rağmen morbiditeyi azaltmak amacıyla cerrahi düşünülmeyip lokal papaverin uygulanmasına karar verilmiş. Güçlü vazodilatatör etkisi olan papaverin uygulamasını takiben hasarlı bölge distalinde nabızların kuvvetlendiğini tespit edilmiştir. Olgular 13 ay izlenmiş nabızları palpabl olduğu görülmüştür (86). Yekeler ve ark. (85) sol renal arter altından aorta klemp koyarak yaptıkları spinal kord iskemisine papaverinin etkilerini araştırdıkları

çalışmalarında; beyin omurilik sıvısı drenajı + intratekal papaverin verilen grupta papaplejinin tamamen önlendiğini tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda papaverin verilen grupta Bowman kapsülü dilatasyonu, tübül epitel dejenarasyonu ve tübüler dilatasyonda anlamlı azalma olduğu tespit ettik.

Elde ettiğimiz sonuçlar bize papaverinin, nitrik oksitde olduğu gibi vazodilatasyon yapıcı etkisiyle anjiotensin, katekolaminler ve endotelinin vazokonstrüktör etkilerini ortadan kaldırarak ayrıca hücre içine Ca^{+2} girişini engelleyerek ve endotel koruyucu etki göstererek böbreklerdeki iskemi/reperfüzyona bağlı hasarın önlenmesinde faydalı olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda iskemi/reperfüzyon grubundaki deneklerin hepsinde (%100) fokal-hafif intertisyel inflamatuvar infiltrasyon saptandı. Papaverin verilen gruptaki bir denekte (%12,5) değişiklik saptanmazken, yedi denekte (%87,5) fokal-hafif intertisyel inflamatuvar infiltrasyon saptandı. Yine iskemi/reperfüzyon grubundaki bir denekte (%12,5) fokal-hafif, dört denekte (%50) multifokal-orta ve üç denekte (37,5) belirgin-yaygın damar konjesyonu saptanmışken, papaverin verilen gruptaki bir denekte (%12,5) değişiklik saptanmadı. Üç denekte (%37,5) fokal-hafif, üç denekte (%37,5) multifokal-orta ve bir denekte (%12,5) belirgin-yaygın damar konjesyonu saptandı. İnterstisyel inflamatuvar infiltrasyon ve damar konjesyonu istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmesede, sonuçların klinik olarak anlamlı kabul edilebileceği ve papaverin ile ilgili daha detaylı çalışmalar yapılması gerektiği görüşündeyiz.

Papaverinin fosfodiesteraz aktivitesini inhibe ederek cAMP'nin vazodilatatör etkisini arttırmasının yanı sıra krebs siklüsünde substratların aerobik mekanizmasını inhibe ettiği, hücre içine Ca^{+2} girişini önlediği, hipoksantinin hücre içine girişini önlediği ve mitokondriler tarafından Ca^{+2} tutulumunu artırdığı bildirilmektedir (83,85). Bunlara ek olarak doku perfüzyonu artışı ve endotel koruyucu etki meydana getirererek iskemi reperfüzyona bağlı böbrek hasarını azatabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızın sonucu bu verilerle paralellik göstermektedir.

Vitamin C verilen grup ile papaverin verilen grup karşılaştırıldığında; Bowman kapsül dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübüler dilatasyon, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon ve damar konjesyonu arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanmadı. İstatistiksel anlamlı bir fark saptanmasada iskemi/reperfüzyon grubuyla karşılaştırıdığında, C vitamini verilen grupta damar konjesyonun daha az olduğunu söylemek mümkün. Yine

papaverinin, C vitaminine göre interstisyel inflamatuvar infiltrasyonu azaltabileceğini söylemek mümkündür.

Sonuç olarak, vitamin C ve papaverin iskemi/reperfüzyona bağlı böbrek hasarını önemli ölçüde azaltmaktadır. Etki mekanizmaları farklıda olsa vitamin C ve papaverinin iskemi/reperfüzyona bağlı böbrek hasarını azaltmada birbirleri arasında istatistiksel bir farklılık saptanmamıştır.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nca yürütülen ve Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi'nde gerçekleştirilen bu çalışmada, sıçanlarda deneysel iskemi/reperfüzyona bağlı böbrek hasarını azaltmada C vitamini ve papaverinin etkinliği, böbrek dokusundaki bazı histopatolojik parametrelerle incelenmiş ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Reperfüzyon sonucu böbrek dokusunda gelişen Bowman kapsülü dilatasyonunun C vitamini ve papaverin verilen gruplarda anlamlı derecede azaldığı görülmüştür.
2. Tübül epitel dejenerasyonu, C vitamini ve papaverin verilen gruplarda anlamlı derecede azalmıştır.
3. Tübüler dilatasyon, C vitamini ve papaverin verilen gruplarda anlamlı derecede azalmıştır.
4. İstatistiksel sonuçlar bize C vitamini ve papaverinin, iskemi/reperfüzyon sonrası böbrek dokusunda gelişen interstisyel inflamatuvar infiltrasyona etkilerinin olmadığını göstermiştir.
5. Vitamin C'nin iskemi/reperfüzyon sonrası damar konjesyonunu azaltıcı etkisi istatistiksel olarak gösterilmiş, papaverinin ise damar konjesyonunu azaltıcı etkisi istatistiksel olarak gösterilememiştir.

ÖZET

Bu deneysel çalışmada, sıçan infrarenal abdominal aortunda oklüzyon-reperfüzyon sonrası böbreklerde oluşan iskemi/reperfüzyon hasarı üzerine vitamin C ve papaverinin etkisi araştırıldı. 32 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan randomize olarak, eşit sayıda (n=8) dört gruba ayrıldı. Kontrol grubuna median laporotomi ve diseksiyon uygulandı. Diğer gruplara uygulanan toplam deney süresi sonunda sol nefrektomi uygulandı. İskemi/reperfüzyon grubuna median laporotomi ardından infrarenal aortaya mikrovasküler klemp konularak 60 dakika iskemi oluşturuldu, ardından klemp kaldırılarak 120 dakika reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyon süresinin sonunda sol nefrektomi yapıldı. Vitamin C grubuna, iskemi/reperfüzyon grubuna ek olarak klemp kaldırılmadan 15 dakika önce 50 mg/kg dozunda vitamin c infüzyonu başlandı ve reperfüzyon süresince devam edildi. Reperfüzyon süresinin sonunda sol nefrektomi yapıldı. Papaverin grubuna iskemi/reperfüzyon grubuna ek olarak klemp kaldırılmadan 15 dakika önce 1.5 mg/kg dozunda papaverin infüzyonu başlandı ve reperfüzyon süresince devam edildi. Reperfüzyon süresinin sonunda sol nefrektomi yapıldı. Böbrek dokuları formaldehit ile fikse edildi. Ardından kesitler hazırlanarak Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Preparatlar ışık mikroskobunda değerlendirildi. Histopatolojik incelemede kontrol grubu ile iskemi/reperfüzyon grubu arasında anlamlı patolojik değişiklik tespit edildi. Vitamin C grubunda Bowman kapsül dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübüler dilatasyon, damar konjesyonu istatistiksel olarak anlamlı iken, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon anlamsızdı. Papaverin grubunda Bowman kapsül dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübüler dilatasyon istatistiksel olarak anlamlı iken, damar konjesyonu, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon anlamsızdı. Sonuç olarak çalışmamızda vitamin C'nin

serbest radikal süpürücü etkisi ile papaverinin ise vazodilatatör etki ile mikrosirkülasyonu koruyarak akut alt ekstremite iskemilerinde reperfüzyon sonrası böbrekte gelişecek hasarı azaltabileceği düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: İskemi, reperfüzyon, böbrek hasarı, papaverin, vitamin C

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF PAPAVERINE AND VITAMIN C (ASCORBIC ACID)'S OVER RENAL INJURY CAUSED BY REPERFUSION WHICH DEVELOPS ON LOWER LIMP EXPERIMENTAL ISKEMIA/REPERFUSION MODEL

SUMMARY

In this experimental study, the effect of vitamin C and papaverine on ischemia-reperfusion injury in kidneys occuring after occlusion-reperfusion of rat infrarenal abdominal aorta was investigated. 32 Spraque-Dawley female rats were randomly divided into four equal groups (n=8). Median laporotomy and dissection were performed on control group. Left nefrectomy operations were performed to rats of other groups at the end of the total experimental period. In group of ischemia/reperfusion, micro vascular clamps were put on infrarenal aorta and 60 minutes of ischemia was supplied and than 120 minutes of reperfusion was applied. In addition to ischemia/reperfusion group, 50 mg/kg dose of vitamin C infusion was started to perform in vitamin C group 15 minutes before the clamp was removed and was continued throughout reperfusion. Left nephrectomy was performed at the end of the reperfusion period. In addition to ischemia/reperfusion group, 1,5 mg/kg dose of papaverine infusion was started to perform in papaverine group 15 minutes before the clamp was removed and was continued throughout reperfusion. Left nephrectomy was performed at the end of the reperfusion period. Renal tissues were fixed with formaldehyde. Then, having preparing insicions renal tissues were stained with hematoxylin-eosin. Samples were examined by light microscopy. Meaningful pathological alterations were found out between

ischemia and reperfusion group and control group. In vitamin C group, while dilatation of Bowman's capsule, tubular epithelial degeneration, tubular dilatation, and vascular congestion were statistically significant, interstitial inflammatory infiltration was meaningless. In papaverine group, dilalation of Bowman's capsule, while degeneration of tubular epithelium, and tubular dilatation were statistically significant, vascular congestion, and interstitial inflammatory infiltration were meaningful. As a result, regarding our study; by saving microcirculation with the radical scavenging effect of vitamin C and with vasodilatory effect of papaverine, we think that it may reduce the injury which might occur in kidneys following the reperfusion in the acute lower extremity ischemias.

Key words: Ischemia, reperfusion, renal injury, papaverine, vitamin C.

KAYNAKLAR

1. Ege T. Kalp ve damar hastalıklarında iskemi-reperfüzyon hasarı. Duran E (Editör). Kalp ve damar cerrahisi. I.Baskı. İstanbul: Çapa Tıp Kitabevi; 2004. s.197-215.

2. Serracino-Inglott F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. Am J Surg 2001;181(2):160-6.

3. Montalvo-Jave EE, Escalante-Tattersfield T, Ortega-Salgado JA, Piňa E, Geller DA. Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury. J Surg Res 2008;147(1):153-9.

4. Koksal C, Bozkurt AK, Sirin G, Konukoglu D, Ustundag N. Aprotinin ameliorates ischemia/reperfusion injury in a rat hind limb model. Vascul Pharmacol 2004;41(4-5):125-9.

5. Colletti LM, Kunkel SL, Walz A, Burdick MD, Kunkel RG, Wilke CA et al. Chemokine expression during hepatic ischemia/reperfusion-induced lung injury in the rat. The role of epithelial neutrophil activating protein. J Clin Invest 1995;95(1):134-141.

6. Gökşin İ, Akbulut M, Baltalarlı A, Saçar M, Kaya Ş, Özcan V ve ark. Normovolemik hemodilüsyonun alt ekstremite iskemi-reperfüzyonu sonrası oluşan akciğer hasarı üzerine olan etkisi. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2006;14(1):54-58.

7. Şirin H, Sarıbülbül O, Cerrahoğlu M, Aksoy Ö, Baltalarlı A, Saçar M ve ark. Alt ekstremite iskemi reperfüzyonunun yol açtığı pulmoner hasarda aprotinin'in koruyucu etkinliği. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2001;9(4):233-237.

8. Tekeli A, Akgün S, Civelek A, İşbir S, Ak K, Çobanoğlu A ve ark. Alt ekstremite iskemi reperfüzyonu sonucunda gelişen akciğer hasarının önlenmesinde farklı bir ajan: FK 506 (Takrolimus). Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2001;9(4):242-246.

9. İşbir S, Akgün S, Ak K, Zeybek Ü, Aydın M, Civelek A ve ark. Akut alt extremite iskemi/reperfüzyon hasarının akciğer serbest oksijen radikalleri üzerine olan etkisi. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2000;8(2):629-31.

10. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Hücre zedelenmesi adaptasyonu ve ölümü. Çevikbaş U (Ed.). Robbins temel patoloji 7th ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2003. s.3-9.

11. Heinzelmann M, Mercer-Jones MA, Passmore JC. Neutrophils and renal failure. Am J Kidney Dis 1999;34(2):384-399.

12. Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. Microsurgery 2004;24(6):468-75.

13. Karakaya A. Akut alt ekstremite iskemi-reperfüzyon sonrasında gelişen böbrek hasarına ilioprost ve levosimendanın etkilerinin araştırılması (tez). Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi; 2009.

14. Durmuş B. Renal iskemi/reperfüzyon sonucu oluşan uzak doku hasarına karşı gallik asidin olası koruyucu etkisi (tez). Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi; 2011.

15. CDI, Robbins and Cotran pathologic basis of disease [CD-ROM]. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. WB Saunders Company, producers. 7th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 2004.

16. Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. Postconditioning: Reduction of reperfusion-induced injury. Cardiovasc Res 2006;70:200-211.

17. Kiriş İ, Okutan H, Savaş Ç, Yönden Z, Delibaş N. Deneysel Aortik İskemi-Reperfüzyon modelinde renal hasara gadolinyum klorürün etkisi. Turkish J Vasc Surg 2005;14(2):13-18.

18. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. Surg. Clin North Am 1992;72(1):65-83.

19. Şener G, Yeğen BÇ. İskemi reperfüzyon hasarı. Klinik Gelişim Derg 2009;22(3):5-14.

20. Davies SJ, Reichardt-Pascal SY, Vaughan D, Russell GI. Differential effect of ischaemia-reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney. Exp Nephrol 1995;3(6):348-54.

21. Reiter RJ, Acuňa-Castroviejo D, Tan DX, Burkhardt S. Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. Ann N Y Acad Sci 2001;939:200-15.

22. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA. Ischemia/reperfusion injury. The Surg.Res 2002;105(2):248-58.

23. Lefer AM, Lefer DJ. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion. Cardiovasc Res 1996;32(4):743-51.

24. Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. Free Radic Biol Med 1998;25(4-5):434-56.

25. Phillips L, Toledo AH, Lopez-Neblina F, Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH. Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. J Invest Surg 2009;22(1):46-55.

26. López-Neblina F, Páez-Rollys AJ, Toledo-Pereyra LH. Mechanism of protection of verapamil by preventing neutrophil infiltration in the ischemic rat kidney. J Surg Res 1996;61(2):469-472.

27. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. Cell 1994;76(2):301-14.

28. Granger DN, Kubes P. The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. J Leukoc Biol 1994;55(5):662-75

29. Woodfin A, Voisin MB, Nourshargh S. PECAM-1: A multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2007;27:2514-2523.

30. Serizawa A, Nakamura S, Suzuki S, Baba S, Nakano M. Involvement of platelet-activating factor in cytokine production and neutrophil activation after hepatic ischemia-reperfusion. Hepatology 1996;23(6):1656-63.

31. Thrane AS, Skehan JD, Thrane PS. A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. Med Hypotheses 2007;68(6):1363-70.

32. Zhang W, Smith C, Shapiro A, Monette R, Hutchison J, Stanimirovic D. Increased expression of bioactive chemokines in human cerebromicrovascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia in vitro. J Neuroimmunol 1999;101(2):148-60.

33. Gautam N, Olofsson AM, Herwald H, Iversen LF, Lundgren-Akerlund E, Hedgvist P et al. Heparin-binding protein (HBP/CAP37): A missing link in neutrophil-evoked alteration of vascular permeability Nat Med 2001;7(10)1123-7.

34. García-Villalón AL, Amezquita YM, Monge L, Fernández N, Salcedo A, Diéquez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. Vascul Pharmacol 2008;48(2-3):109-14.

35. Weight SC, Bell PRF, Nicholson ML. Renal ischaemia-reperfusion injury. Br J Surg 1996;83(2):162-70.

36. Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. Cardiovasc Surg 2002;10(6):620-30.

37. Lindsay TF, Liauw S, Romaschin AD, Walker PM. The effect of ischemia/reperfusion on adenine nucleotide metabolism and xanthine oxidase production in skeletal muscle. J Vasc Surg 1990;12(1):8-15.

38. Becker M, Menger MD, Lehr HA. Heparin-released superoxide dismutase inhibits postischemic leukocyte adhesion to venular endothelium. Am J Physiol 1994;297(3pt2):H925-30.

39. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. J Pathol 2000;190(3):255-66.

40. Panés J, Perry M, Granger DN. Leukocyte-endothelial cell adhesion: avenues for therapeutic intervention. Br J Pharmacol 1999;126(3)537-550.

41. Günaydın B, Çelebi H. Genel anesteziklerin serbest radikaller ve antioksidanlarla ilişkisi. Anestezi Derg 2003;11(2):87-98.

42. Demiryürek AT, Kennedy S, Wainwright CL, Wadsworth RM, Kane KA. Influence of nitric oxide on luminol-enhanced chemiluminescence measured from porcine-stimulated leukocytes. J Cardiovasc Pharmacol 1997;30(3):332-7.

43. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Uriner sistem. Aytekin Y, Solakoğlu S (Editörler). Temel Histoloji. İstanbul: Barış Kitabevi; 1993. s.437-462.

44. İşlekel H. Böbrek fonksiyonları ve bozuklukları. Onat T, Emerk K, Sözmen EY (Editörler). İnsan Biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık; 2002. s.37-42.

45. Akpolat T, Utaş C, Süleymanlar G. Nefroloji El Kitabı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1996. s.1-23.

46. Tisher CC. Structure and function of kidneys. In: Goldman L, Bennet JC (eds). Cecil Textbook of Medicine. 7th ed. Pensylvania: WB Saunders Company; 2000. p.532-539.

47. Burtis CA, Ashwood ER, Tietz NW. Basic prenciples in clinical chemistry. Aslan D (ed). Klinik kimyada temel ilkeler. Ankara: Palme Yayıncılık; 2005. s.308-722.

48. Guyton AC, Hall JE. Urine formation by the kidneys: Glomeruler filtration, renal blood flow and their control. Textbook of Medical Physiology.9th ed. Pensylvania: WB Saunders Company; 1996. p.315-330.

49. Navar LG, Carmine PK, Mitchell KD. Renal circulation In: Text book of Nephrology. Williams&Wilkins Baltimore; 1995. p.41-54.

50. Alem N. Askorbik asidin hücre yaşlanması üzerine etkisi (tez). Ankara: Gazi Üniversitesi; 2007.

51. Dökmeci İ. Suda çözünür vitaminler. Farmakololi Temel Kavramlar. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000. s.790-810.

52. Silalahi J. Anticancer and health protective properties of citrus fruit components. Asia Pac J Clin Nutr 2002;11(1):79-84.

53. Kayaalp SO. Periferik vazodilatatörler. Kayaalp SO (ed). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Ankara: Pelikan Yayıncılık; 2009. s.388-390.

54. Uysal A, Burma O, Akar İ, Özsin KK, Rahman A, Üstündağ B ve ark. Alt ekstremite iskemi reperfüzyonunun yol açtığı akciğer hasarında melatoninin koruyucu etkinliği. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2006;14(4):308-314.

55. Badhwar A, Dungey AA, Harris KA, Scott JA, McCarter SD, Scott JR et al. Limitations of ischemic tolerance in oxidative skeletal muscle: perfusion vs tissue protection. J Surg Res 2003;109(1):62-7.

56. Sexon WL, Korthuis RJ, Laughlin MH. Ischemia-reperfusion injury in isolated rat hindquarters. J Appl Physiol 1990;68(1):387-392.

57. Kurose I, Anderson DC, Miyasaka M, Tamatani T, Paulson JC, Todd RF et al. Molecular determinants of reperfusion-induced leukocyte adhesion and vascular protein leakage. Circ Res 1994;74(2):336-43.

58. Saba D, Yavuz H, Şenkaya I, Ağrış M, Dirican M, Serdar Z ve ark. Kalsiyum dobesilatın iskelet kası iskemi-reperfüzyon hasarındaki rolü. Turkish J Thorac and Cardiovasc Surg 2000;8:797-801.

59. Hardy SC, Homer-Vanniasinkam S, Gough MJ. The triphasic pattern of skeletal muscle blood flow in reperfusion injury: an experimental model with implications for surgery on the acutely ischaemic lower limb. Eur J Vasc Surg. 1990;4(6):587-90.

60. Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. Eur J Vasc Endovasc Surg 1997;14(3):195-203.

61. Gamulin Z, Forster A, Morel D, Simonet F, Aymon E, Favre H. Effects of infrarenal aortic cross-clamping on renal hemodynamics in humans. Anesthesiology 1984;61(4):394-9.

62. Awad RW, Barham WJ, Taylor DN, Woodward DA, Bullen BR. The effect of infrarenal aortic reconstruction on glomerular filtration rate and effective renal plasma flow. Eur J Vasc Surg 1992;6(4):362-7.

63. Lance DD, Brenner BM. The renal circulation. In: Brenner BM (Ed). Brenner and Rector's the kidney. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1996. p.247-286.

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

65. Brady HR, Singer GG. Acute renal failure. The Lancet 1995;346:1533-1540.

66. Gülmen Ş, Doğuç DK, Ceylan BG, Çetin NK, Meteoğlu İ, Okutan H ve ark. Deneysel aortik iskemi-reperfüzyonda beta-glukanın böbrek hasarı üzerine etkisi. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2011;19(2):234-241.

67. Karaca Ş, Güder H. Dermatolojide antioksidan sistem. Turk J Dermatol 2009;3:32-9.

68. Berkan Ö, Katrancıoğlu N, Gülay İ, Yıldız E. Alt ekstremite iskemi reperfüzyona bağlı gelişen akciğer hasarında askorbik asidin etkisi. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2001; 9(4):238-241.

69. Panés J, Granger DN. Leukocyte- endothelial cell interactions: Molecular mechanisms and implications in gastrointestinal disease. Gastroenterology 1998;114(5):1066-1090.

70. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. Anesthesiology 2001;94(6):1133-8.

71. Fitch JC, Rollins S, Matis L, Alford B, Aranki S, Collard CD et al. Pharmacology and biological efficacy of a recombinant, humanized, single-chain antibody C5 complement inhibitor in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass. Circulation 1999;100(25):2499-506.

72. Teruya R, Fagundes DJ, Oshima CT, Brasileiro JL, Marks G, Ynouye CM et al. The effects of pentoxifylline into the kidneys of rats in a model of unilateral hindlimb ischemia/reperfusion injury. Acta Cir Bras 2008;23(1):29-35.

73. Aydoğdu N, Kaymak K, Yalçın Ö. Sıçanlarda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında N- Asetilsisteinin etkileri. Fırat Tıp Derg 2005;10(4):151-155.

74. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. J Clin Invest 1984;74(4):1156-1164.

75. Döşlüoğlu HH, Aktan AO, Yeğen C, Okboy N, Yalçm AS, Yahn R ve ark. The cytoprotective effects of verapamil and iloprost (ZK 36374) on ischemia/reperfusion injury of kidneys. Transpl Int 1993;6(3):138-42.

76. Park JL, Lucchesi BR. Mechanisms of myocardial reperfusion injury. Ann Thorac Surg 1999;68:1905-12.

77. Berkan Ö, Güneç F, Katrancıoğlu N, Güney İ, Doğan K. Yıldız E. İskemi ve reperfüzyona bağlı olarak ortaya çıkan akciğer hasarını önlemede pentoksifilin, karnitin ve askorbik asidin etkileri. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2002;10(2):92-95.

78. Saçar M, Özcan V, Aybek H, Önem G, Demir S, Gökşin İ ve ark. Vitamin C and iloprost attenuate skeletal muscle injury caused by ischemia-reperfusion of the lower extremities. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2005;13(4):374-378.

79. Antunes LM, Darin JD, Bianchi MD. Protective effects of vitamin c against cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats: a dose-dependent study. Pharmacol Res 2000;41(4):405-11.

80. Abraham P. Vitamin C may be beneficial in the prevention of paracetamol-induced renal damage. Clin Exp Nephrol 2005;9(1):24-30.

81. Kavutcu M, Canbolat O, Oztürk S, Olcay E, Ulutepe S, Ekinci C ve ark. Reduced enzymatic antioxidant defense mechanism in kidney tissues from gentamicin-treated guinea pigs: effects of vitamins E and C. Nephron 1996;72(2):269-74.

82. Singh S, Rana SV. Amelioration of arsenic toxicity by L-ascorbic acid in laboratory rat. J Environ Biol 2007;28(2):377-84.

83. Genç FA. Akut mezenterik iskemik sendromlar (yaklaşım ne olmalıdır?). Ulusal Travma Derg 1994;3(1):1-8.

84. Mert M, Özkara A, Seren S, Gülcan F, Erdem CÇ, Süzer K. Topikal ve intralüminal papaverin uygulamalarının internal torasik arter akımına etkisi. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2004;12(2):76-80.

85. Yekeler I, Yüksek MŞ, Dane Ş, Ceviz M, Kayaoğlu ÇR, Kutlu N. Aortik oklüzyon sırasında spinal kord'un korunmasında bos drenajı+intratekal papaverine ve marcaine'in etkisi. Atatürk Ün Tıp Bülteni 1993;25(2):309-316.

86. Saba D, Ercan A, Şenkaya I, Özkan H. Ortopedik travmalarla birlikte bulunan damar yaralanmalarının tedavisi. Ulusal Travma Derg 2000;6(3):166-170.

87. Kiriş I, Kapan S, Kilbas A, Yilmaz N, Altuntaş I, Karahan N ve ark. The protective effect of erythropoietin on renal injury induced by abdominal aortic-ischemia-reperfusion in rats. J Surg Res 2008;149(2):206-13.

88. Salman E, Bayraktaroğlu M, Doğan OV, Yörükoğlu Y, Yücel E, Kösebalaban Ş ve ark. Askorbik asit'in serbest oksijen radikal temizleyici olarak açık kalp cerrahisinde kullanımı. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 1994;2:216-220.

89. Ambali S, Akanbi D, Igbokwe N, Shittu M, Kawu M, Ayo J. Evaluation of subchronic chlorpyrifos poisoning on hematological and serum biochemical changes in mice and protective effect of vitamin C. J Toxicol Sci 2007;32(2):111-20.

90. Ulker S, McMaster D, McKeown PP, Bayraktutan U. Antioxidant vitamins C and E ameliorate hyperglycaemia-induced oxidative stress in coronary endothelial cells. Diabetes Obes Metab 2004;6(6):442-51.

91. Unal D, Yeni E, Erel O, Bitiren M, Vural H. Antioxidative effects of exogenous nitric oxide versus antioxidant vitamins on renal ischemia reperfusion injury. Urol Res 2002;30(3):190-4.

92. Chatterjee PK, Patel NS, Kvale EO, Cuzzocrea S, Brown PA, Stewart KN et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces renal ischemia/reperfusion injury. Kidney Int 2002;61(3):862-71.

93. Kerschner JE, Futran ND. The effect of topical vasodilating agents on microvascular vessel diameter in the rat model. Laryngoscope 1996;106(11):1429-33.

EKLER

Ek 1

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 07 **Karar Tarihi: 23.08.2011**

KARAR NO: **2011.07.10**

Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Serhat Hüseyin'in yaptığı Arş. Gör. Dr. Kadir Arslan'ın Tıpta Uzmanlık tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2011/50 protokol nolu "Alt ekstremitenin deneysel iskemi/reperfüzyon modelinde gelişen reperfüzyona bağlı böbrek hasarına papaverine hcl ve vitamin c (askorbik asit)'nin etkilerinin araştırılması." başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
İlyas ÖZMEN Sivil Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Doç.Dr. S. Arzu VARDAR Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Doç. Dr. Nilda TURGUT Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Ruşen COŞAR-ALAŞ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	