

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**BÖBREK İSKEMİSİNE; İSKEMİK
POSTCONDITIONİNG, KARACİĞER İSKEMİK
POSTCONDITIONİNG VE PRAVASTATİNİN
KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Hakan SARSILMAZ

**Genel Cerrahi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR
2015**

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**BÖBREK İSKEMİSİNE; İSKEMİK
POSTCONDITIONİNG, KARACİĞER İSKEMİK
POSTCONDITIONİNG VE PRAVASTATİNİN
KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Hakan SARSILMAZ

**Genel Cerrahi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŐMANI
Prof Dr Ersin ATEŞ**

**ESKİŞEHİR
2015**

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T. C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Hakan SARSILMAZ'a ait 'Böbrek İskemisine; İskemik Postconditioning, Karaciğer İskemik Postconditioning Ve Pravastatinin Koruyucu Etkisinin Araştırılması" adlı çalışma jürimiz tarafından Genel Cerrahi Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı

Prof .Dr. Ersin ATEŞ

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Üye

Prof .Dr. Ercüment PAŞAOĞLU

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Üye

Doç.Dr. Sezgin YILMAZ

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun..... Tarih ve..... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr. Enver İHTİYAR

Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, tezimin hazırlanmasında büyük emeği olan sayın hocam Prof. Dr. Ersin ATEŞ e ve Genel Cerrahideki eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren değerli hocalarıma yardımları için teşekkür ederim.

ÖZET

Sarsılmaz, H. 'Böbrek İskemisine; İskemik Postconditioning, Karaciğer İskemik Postconditioning Ve Pravastatinin Koruyucu Etkisinin Araştırılması, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi Eskişehir 2015. İskemik postconditioning in İskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu etkisi birçok organda gösterilmiştir. Biz çalışmamızda karaciğerde uygulanan postconditioning iskeminin uzak organ olan böbreğe etkisini araştırmayı planlıyoruz. Remote postconditioning etki; İskeminin kaçınılmaz olduğu cerrahi girişimlerde, özellikle organ transplantasyonlarında,organ canlılığını ve yaşam sürelerini artıran basit ucuz etkili bir yöntem olmaya adaydır. Bu çalışma; özellikle renal transplantasyon sonrası görülen ve organ reddine ve hasarına neden olan iskemi-reperfüzyon hasarını engellemede iskemik postconditioning uygulamasının etkinliğini araştırmak ve klinik çalışmalara zemin oluşturmak amacıyla yapılacaktır. Bu amaçla 80 Sprague Dawley sağlıklı dişi rat rastgele 4 gruba ayrıldı(n=16); Sham, kontrol, böbrek sonkoşullanma ve karaciğer(uzak organ) sonkoşullanma. Bütün gruplarda bulunan ratlar randomize olarak 24 ve 48 saatlik iki alt gruba ayrıldı. Sham grubundaki hayvanlara sadece laparotomi ve organ(karaciğer-böbrek) pedikül diseksiyonu yapıldı. Diğer gruplara sağ nefrektomi yapıldı. I/R hasarı 45 dk'lık sol pedikül oklüzyonunu takiben 24 ve 48 saatlik reperfüzyon ile sağlandı. İskemik sonkoşullanma 10 dk reperfüzyon sonrası karaciğer veya böbreğe uygulanan 10 dk lık kısa iskemilerle yapıldı. Bu çalışmamızda 45 dakikalık böbrek iskemi sonrası uygulanan lokal (böbrek) sonkoşullanma ve uzak(karaciğer) iskemik sonkoşullanmanın böbrekte oluşan iskemi reperfüzyon hasarını azalttığı histopatolojik olarak , ultrastrüktürel olarak ve laboratuvar bulguları ile ortaya konmuştur. iskemi ve reperfüzyona bağlı hasarın yoğun olarak izlendiği ilk 48 saat ayrıntılı parametrelerle incelenmiş olup elde edilen sonuçlar iskemi reperfüzyon hasarını engellemede klinik uygulamalar için yol gösterici olduğu ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Böbrek iskemi, reperfüzyon hasarı, remote iskemik sonkoşullama

ABSTRACT

Sarsilmaz, H. Effect of ischemic postconditioning, hepatic ischemic postconditioning and pravastatin in renal ischemia Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, General Surgery Department of Medicine Thesis Eskişehir 2015. Ischemic postconditioning protective effect has been shown in many organs in Ischemia reperfusion injury . In this study, we aimed investigation of remote organ effect of the hepatic postconditioning ischemia to the renal ischemia. Eighty healthy adult female Sprague-Dawley rats were randomly assigned to four groups: sham, IRI, IPostC , and RIPostC. Right nephrectomy was performed initially in all rats. IRI was induced by occluding the left renal artery for 45 min, followed by reperfusion for 24 h and 48 h. IRI, IPostC , and RIPostC were induced with 10-min ischemia/reperfusion (I/R) cycles using a occluding renal or hepatic artery. In our study group III and group IV , electromicroscopic examination of the normal glomerular bowman capsule as it is closer to the distance between the volume of visceral and parietal sheets it was found to be closer to normal. In the basement membrane in the postconditioning treatment group were found to be irregular and lighter weight undulation than the other groups. Again according to control group were observed the tubular epithelial cells in this group showed normal structure. Histologically we also observe findings close to normal tissue in the treatment group was obtained. In this study, after 45 minutes renal ischemia, locally applied (kidney) postconditioning and remote postconditioning (liver), reduce ischemia/reperfusion injury(I/R I) demonstrated by histopathologic, ultrastructural and laboratory findings. Ischemia and reperfusion injury which is monitored intensively examined the first 48 h. Protective effects of ischemic PostC and RpostC procedure examined and this will be the guidance for clinical practice in the prevention of ischemia-reperfusion injury.

Key Words: Renal ischemia, ischemia reperfusion injury, ischemic remote postconditioning

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1. İskemi - Reperfüzyon	2
2.2 İskemi reperfüzyon hasar mekanizmaları	8
2.3 İskemik önkoşullanma	18
2.4 İskemik sonkoşullanma	22
2.5 Böbrek anatomisi ve fizyolojisi	25
2.6. Renal iskemi reperfüzyon	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1 Biyokimyasal ölçümler	33
3.2 Histopatolojik değerlendirme	35
3.3 Elektron mikroskopik değerlendirme(TEM)	35
3.4 İstatistiksel analiz	36
4.BULGULAR	37
4.1 Biyokimyasal bulgular	37
4.2 Histopatolojik bulgular	46
4.3 Elektron mikroskopisi bulguları	48
5. TARTIŞMA	73
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	85
KAYNAKLAR	103

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATP	Adenozin Trifosfat
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat,
cGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
DİÖK	Direkt İskemik Ön Koşullama
eNOS	Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
GFH	Glomerüler Filtrasyon Hızı
H ₂ CO ₃	Karbonik Asit
H-E	Hematoksilen Eozin
ICAM	Hücre içi Adezyon Molekülü
İ/R	İskemi-Reperfüzyon
İ/R H	İskemi-Reperfüzyon Hasarı
İÖK	İskemik Ön Koşullama
İPostC	İskemik son koşullanma
MDA	Malondialdehid
MNH	Mono Nükleer Hücre
MOF	Multiple Organ Failure (Çoklu Organ Yetersizliği)
MPO	Myeloperoksidaz
Na ⁺	Sodyum iyonu
NAS	N-Asetilsistein
NO	Nitrik Oksit
PMNL	Polimorf Nüveli Lökosit Sendromu)
RİPostC	Remote iskemik sonkoşullanma
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome (Sistemik Enflamatuvar Yanıt
SOR	Serbest Oksijen Radikali
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktör Alfa
TxA ₂	Tromboksan A ₂
UİÖK	Uzak İskemik Ön Koşullama

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1 Akut hücre zedelenmesinin nedenleri	4
2.2 İskemide membran hasarı.(Türkyılmaz Z. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Zedelenmesinde Pentoksifilin, Dimetilsülfoksit ve Eksojen Melatoninin Koruyucu Etkilerinin Karşılaştırılması (tez). Edirne: TÜ Tıp Fak, 2003)	6
2.3 İskemik koşullanma mekanizmaları	21
2.4 Sonkoşullanmanın hücre içi ileti yolları ve etkileri	24
2.5 Kolesterol sentezinin basamakları ve hücre içi ulaklara etkileri 30	
2.6 Böbrek kan akımı ve gromerül yapısı	34
2.7 Böbreğin kronal kesiti, nefronun şematik diyagramı(Zhang ve ark 2013)	34
2.8 Renal iskemi-reperfüzyon hasarı mekanizması (Prabal K. Chatterjee: Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury:a comprehensive review. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 376:1–43,2007)	36
2.9 İskemik ve akut tübüler nekroz (ATN) patogenezinde rol oynayan faktörlerin şematik görünümü.	37

TABLÖLAR

	Sayfa
2.1 İskemik önkoşullanmaya dahil olan moleküller	20
2.2 Kaynak 42.0 (deneysel hepatik iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde iskemik sonkosullama ve etkinligidr. bak_aydogan.tez 2006)	23
3.1 Deney grupları	38

RESİMLER

Sayfa

4.1	Tübül yapıları arasında, lümenleri eritrositler ile dolu, konjesyone damar yapıları izlenmektedir (HE x 200) (48.saat 3.grup olgusu)	46
4.2	Tübül yapıları lümeninde bazıları amorf görünümde silendirik materyal birikimi gözlenmektedir (HE x 200) (24.saat 3.grup olgusu)3. 2.3 İskemik koşullanma mekanizmaları	46
4.3	Tübül epitelinde sitoplamik vakuolizasyon ve berraklaşma mevcuttur (HE x 200) (48.saat 3. grup olgusu)	47
4.4	Resmin üst yarısında tübül epitel hücrelerinin sadece silüetleri izlenmekte, nükleusları seçilememektedir. Alt kısımda kısmen korunmuş tübül yapıları bulunmaktadır (HE x 200) (24.saat 4.grup olgusu)	48
4.5	Elektronmikroskopi sonuçları(I. Grup 24 saat)(resim 1a-1d)	60
4.6	Elektronmikroskopi sonuçları(II. Grup 24 saat)(resim 2a-2d)	62
4.7	Elektronmikroskopi sonuçları(III. Grup 24 saat)(resim 3a-3e)	64
4.8	Elektronmikroskopi sonuçları(IV. Grup 24 saat)(resim 4a-4f)	67
4.9	Elektronmikroskopi sonuçları(V. Grup 24 saat)(resim 5a-5d)	70
4.10	Elektronmikroskopi sonuçları(I. Grup 48 saat)(resim 6a-6b)	73
4.11	Elektronmikroskopi sonuçları(II. Grup 48 saat)(resim 7a-7e)	74
4.12	Elektronmikroskopi sonuçları(III. Grup 48 saat)(resim 8a-8f)	77
4.13	Elektronmikroskopi sonuçları(IV. Grup 48 saat)(resim 9a-9g)	80
4.14	Elektronmikroskopi sonuçları(V. Grup 48 saat)(resim 10a-10d)	83

1. GİRİŞ

Organlar transplantasyonlar başta olmak üzere birçok cerrahi uygulamada kaçınılmaz olarak iskemiye maruz kalmaktadırlar. İskeminin organ üzerine oluşturduğu hasar ve iskemi sonrası reperfüzyonun etkileri, üzerinde birçok çalışma yapılmasına rağmen henüz tam olarak aydınlatılamamış kompleks bir olaydır. Son dönemlerde iskemi-reperfüzyonun oluşturduğu hasarı engellemede preconditioning(ön koşullanma) ve postconditioning(son koşullanma) deneysel ve klinik çalışmalarda geniş yer bulmuştur. Postconditioning remote(uzak organ) etkisi ise birçok çalışmaya konu olan ancak etki mekanizması ve sonuçları net olarak ortaya konmamış dikkat çeken diğer bir yöntemdir.

Son yıllarda cerrahi tekniklerde oluşan ilerlemeler sonucu organ transplantasyonlarının artması; organ ihtiyacı ve transplantasyon sonrası greftlerin canlılığının korunması gibi sorunlara ilgiyi artırmıştır. Remote postconditioning(uzak organ sonkoşullanma) etki; iskeminin kaçınılmaz olduğu cerrahi girişimlerde, özellikle organ transplantasyonlarında, organ canlılığını ve yaşam sürelerini artıran basit ucuz etkili bir yöntem olmaya adaydır.

İskemik sonkoşullanmanın İskemi-reperfüzyon(İ/R) hasarında koruyucu etkisi birçok organda gösterilmiştir. Biz çalışmamızda böbreği iskemi sonrası reperfüzyonu takiben kısa iskemilere maruz bırakarak sonkoşullanmanın ve karaciğerde uygulanan sonkoşullanma iskeminin uzak organ olan böbreğe etkisini araştırdık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. İskemi-Reperfüzyon

Bir organa gelen kan akımının çeşitli nedenlerle yetersiz hale gelmesi veya durması iskemi olarak tanımlanır. Bu tür kan akımındaki bozulma ve dokularda iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarı klinik olarak vasküler ve transplantasyon cerrahisi, turnike uygulaması, serbest doku transferleri, akut kompartman sendromu ve ampute ekstremitenin replantasyonu gibi durumlarda ortaya çıkabilir(1).

İskemiye bağlı olarak ilgili doku hipoksidede kalır ve bunun sonucunda doku hasarı ortaya çıkar. İskemi, hücrede enerji düzeyinin düşmesine ve toksik metabolitlerin dokuda birikmesine yol açarak hücrede fonksiyon bozukluğu ve sonrasında hücre ölümüne kadar gidebilen bir dizi biyokimyasal reaksiyonu başlatır(2).

Reperfüzyon ise doku kanlanması yeniden başlamasıdır. İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması durumunda (reperfüzyon), özellikle dokuya gelip yerleşen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından salınan serbest oksijen radikalleri (SOR) dokudaki yıkım üzerinde daha fazla artırıcı etki yapar. Bu olay ise reperfüzyona bağlı doku hasarı olarak tanımlanır(3). Hasarın şiddeti iskeminin süresine, dokunun ısısına ve dokuya özgün faktörlere bağlı olarak değişir(4). Reperfüzyon döneminde başlayan reaksiyonların sitotoksik oksidanlar ile ilişkili olması nedeniyle, bu dönemde gelişen hasarın sadece iskemiden sonra oluşan hasara göre daha ciddi olduğu bildirilmiştir

İskemi sırasında iskemik dokuda toksik oksijen radikalleri üretilir. Reperfüzyondan sonra serbest oksijen radikalleri ve süperoksit radikalleri endotel hasarına ve vasküler geçirgenliğin artmasına neden olur. Ayrıca aktive olan adezyon molekülleri ve sitokinler de sistemik inflamatuvar yanıtı başlatırlar(5).

Serbest oksijen radikallerinin potansiyel zararlarını önlemek için vücutta bulunan çok sayıdaki hücre koruyucu enzimleri ile karşı koyarak, antioksidan maddeler ile radikal hasarı sınırlandırılmaya çalışılır. Sağlıklı

vücutta hücresel antioksidan enzimler, antioksidan maddeler ve serbest radikallerin birbirleri arasında dengeli bir ilişki bulunmaktadır(6). İskemik ortamda doku adenozin trifosfat (ATP) düzeyi azalmakta, asidoz oluşmakta ve uzun iskemi sürelerinin ardından gelen reperfüzyon sonrası boşalan ATP depoları organ canlılığını sürdürmek için yeterli miktarda doldurulamamaktadır. Reperfüzyon sonrası ortama gelen nötrofiller ve bunlardan açığa çıkan mediatörlerin zararlı etkileri de eklenince organ veya doku ölümü kaçınılmaz olmaktadır(7).

2.2. İskemi-Reperfüzyon Hasarı

İskemi-reperfüzyon hasarı (İ/R H) vücudumuzdaki tüm organlarda kendini gösterebilen ve yalnız meydana geldiği organla sınırlı kalmayan, pek çok organ ve sistemde olumsuz etkiler yapan patolojik bir durumdur(8). İskemi organı veya dokuyu perfüze eden kan akımındaki yetersizliğe bağlı olarak gelişen dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre/doku zedelenmesine neden olmaktadır. Geri dönüşümsüz hücre hasarını önleyebilmek için organa/dokuya yeniden kan akımının sağlanması gerekmektedir. İ/R H'yı önlemek amacıyla çoğunluğu deneysel olan çalışmalarda, birçok farmakolojik ajan kullanılmıştır(9).

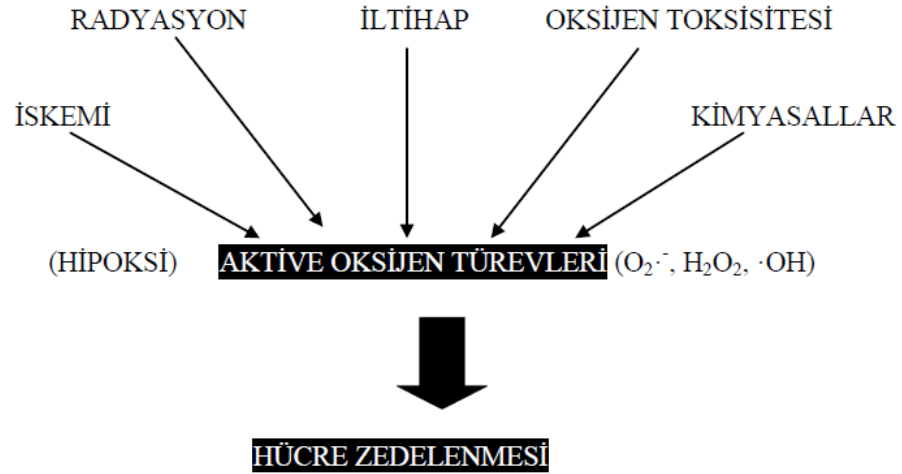
Reperfüzyon; iskemi sırasında duran ya da yavaşlayan kan akışının yeniden normale dönmesidir. İskemik organda kan akışı her ne kadar normale dönse de iskemik organ, fonksiyonlarını kısmen geri kazanır(10). Kan akışı reperfüzyon ile düzenlenirken iskemi boyunca meydana gelen biyokimyasal ve moleküler değişimler serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olurlar(10). Süper oksit ($O_2^{\cdot-}$) anyonu, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil ($\cdot OH$) en iyi bilinen serbest oksijen radikalleridir. Bu ürünlerin oluşumunda ksantin oksidaz (KO) sistemi ile difosfonükleotid (NADPH) sistemi etkin rol oynamaktadır(11). Sonuçta reperfüzyon iskemik dokularda iskeminin dokuda oluşturduğu hasardan daha fazla bir hasara yol açabilmektedir(13).

İskemi-reperfüzyondan (İ/R) en çok mikrovasküler damar endotel hücreleri etkilenir. Bu süreç boyunca oluşan serbest oksijen radikalleri endotel hücrelerinin şişmesine ve kapiller geçirgenliğinin artmasına neden

olur. Reperfüzyon oluşurken normale dönmeye çalışan kan akımı ile birlikte, hali hazır da bol miktarda salınmış bulunan inflamatuvar substratların iskemik alana ulaşımı da sağlanır. Aktifleşen nötrofiller, inflamatuvar hücrelerle birlikte bölgesel hasarın çok daha genişlemesine yol açar. Reperfüzyon hasarının boyutu dokudan dokuya değişmektedir. Deri ve kemik dokuları, iskelet kası ve intestinal mukozaya göre İ/R'ye daha dayanıklıdır. İskemi-reperfüzyon periyodunun uzunluğu ve derinliği, doku mikrosirkülasyonunun geri dönüşümünü, hücrenin temel yapı ve fonksiyonlarını değişik derecelerde etkileyerek hasarın büyümesine neden olmaktadır(13).

1. Akut Hücre Zedelenmesinin Nedenleri

Akut hücre zedelenmesi, uyarana karşı oluşur ve hücre morfolojisinde değişimler meydana getirir. İskemide aktive olan SOR lipid peroksidasyonuna ve hücre harabiyetine neden olur .



Şekil 2.1: Akut Hücre Zedelenmesinin Nedenleri

1. Geri Dönüşümlü Zedelenme

- I. Hipoksi, hücre hasarı ve ölümünün en sık nedenlerinden biridir. Hipoksidede, hücre içi oksijen azlığı nedeniyle aerobik solunum aksar ve mitokondrideki oksidatif fosforilasyon engellenir. Adenozin trifosfat (ATP) üretimi azalır ya da tamamen sona erer. ATP kaybı

sonucu ATPaz aktivitesi de azalır. Bu, hücre zarında bulunan aktif sodyum pompası yetersizliği ve beraberinde hücre içinde sodyum birikimi sonucunu doğurur. Hücre içi potasyum dışarı atılır. Ardından su hücre içine girer ve hücrel şişme meydana gelir. Hücrel şişmenin bir diğer nedeni ise katabolitlerin birikimidir(14).

- II. Hücrenin enerji metabolizması bu süreç içerisinde glikoza bağımlı hale gelir. Glikojen depoları hızla azalır. Glikoliz, laktik asit ve fosfat türevlerinin hidrolizi ile inorganik fosfatların birikimine, bu ise hücre içi pH'yı düşürerek asidoza neden olur.
- III. Sonrasında granüllü endoplazmik retikulumdan ribozomlar ayrılır ve polizomlar monozomlara parçalanarak protein sentezi azalır. Hipoksi devam ederse membran geçirgenliği artar ve mitokondri fonksiyonları yavaşlar. Bu sırada mitokondriler normal, hafif yoğunlaşmış ya da şişmiş, endoplazmik retikulum ise genişlemiş olarak görülür. Sonuçta hücre belirgin biçimde şişer. Buraya kadar olan olaylar geri dönebilir değişikliklerdir. İskemi bu andan sonra da devam ederse, geri dönüşümsüz hücre zedelenmesi başlar. Hücre hasarının yapısal değişiklikleri, bazı kritik biyokimyasal sistemlerin bozulmasından sonra görünür hale gelir. Hücre şişmesi geri dönüşümlü bir hasardır ve dakikalar içinde görülebilir. Hücre ölümü, örneğin miyokard bulguları tam iskemiden 10-12 saat sonrasına kadar ışık mikroskobu ile görülmemektedir. Geri dönüşümsüz hasar son bilgilere göre ilk 20-60 dakika içinde oluşur(15).

2. Geri Dönüşümsüz Zedelenme

Geri dönüşümsüz hücre zedelenmesinde mitokondri ve kristalarda aşırı vakuolizasyon ile plazma zarında aşırı zedelenme vardır. Hasarlanmış ve ileri derecede geçirgenleşmiş zarlardan hücre için gerekli yaşamsal elemanların kaybolduğu görülür. Hücre içi pH'nın düşmesi, lizozom zarlarının zedelenmesi ve beraberinde enzimlerin sitoplazmaya geçerek asit hidrolazları aktiflemesi sonucu, çekirdek ve sitoplazma yapıları sindirilir.

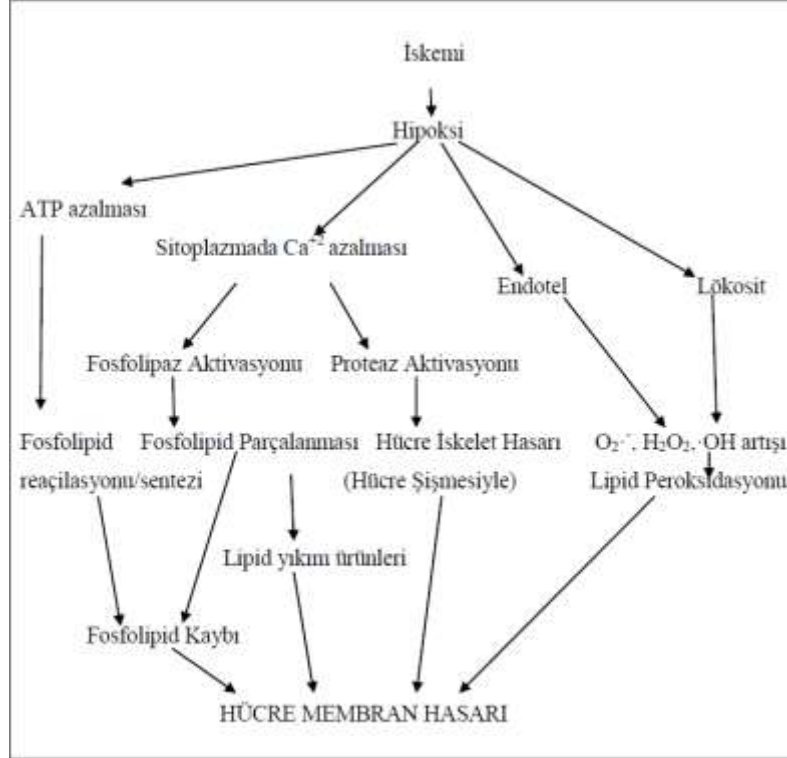
Hücre zedelenmesinde en önemli basamak kuşkusuz membran zedelenmesidir.

Hücre membran zedelenmesinin altı farklı nedenden kaynaklandığı kabul edilmektedir. Bu nedenler şu şekilde sıralanır;

1. Mitokondri fonksiyon bozukluğu,
2. Membran fosfolipidlerinin giderek artan kaybı,
3. Hücre iskeletindeki değişimler,
4. SOR,
5. Lipid yıkım ürünleri,
6. Hücre içi aminoasitlerin kaybı.

Membran zedelenmesi, hücrelerarası mesafeden hücre içine doğru kalsiyum (Ca^{+2}) tutulumuna neden olur. Reoksijenasyondan sonra mitokondri tarafından tutulan Ca^{+2} hücresel enzimleri inhibe ve proteinleri denature eder. Sonuçta koagülasyon nekrozuna özgü hücresel değişimler meydana gelir(16).

İskemi sonrasında dokuda dolaşımın yeniden başlaması, reperfüzyon olarak adlandırılmaktadır. İskemi sonucunda artan SOR kan akımı düzeldikten sonra reperfüzyon zedelenmesine yol açar. Reperfüzyon oluşmazsa, öldürücü iskemik zedelenme gelişir fakat toksik SOR oluşmaz. Reperfüzyon sırasında iskemik alanda toplanan nötrofil ve trombositlerin aktivasyonu, hücre içi Ca^{+2} birikimi ile mikrovasküler hasarın dokudaki zedelenmenin nedeni olduğu bilinmektedir. Toksik oksijen türevlerinin büyük ölçüde iskemik alanda toplanan polimorf nüveli lökositler tarafından yapıldığı düşünülmektedir(17).



Şekil 2.2. İskemide membran hasarı.(Türkyılmaz Z. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Zedelenmesinde Pentoksifilin, Dimetilsülfoksit ve Eksojen Melatoninin Koruyucu Etkilerinin Karşılaştırılması (tez). Edirne: TÜ Tıp Fak, 2003)(18).

2.3 İskemi-Reperfüzyon Hasarının Fizyopatolojisi

İ/R sonrası dokularda mikrovasküler fonksiyon bozukluğu gelişir. Arteriyollerde endotele bağımlı dilatasyon bozulur. Kapillerlerde lökosit tıkaçları oluşur, sıvı filtrasyonu artar. Postkapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına çıkması ve lökositlerin hareketliliği başlar. Mikrosirkülasyonun bütün segmentlerinde aktive olan endotel hücreleri daha fazla serbest oksijen radikalleri (SOR) ve daha az nitrik oksit (NO[·]) üretir. Endotel hücrelerinde süperoksit radikali ve nitrik oksit arasındaki dengesizlik inflamatuvar mediyatörlerin üretim ve salınımına öncülük ederken adhezyon moleküllerinin biyosentezini de artırır(19).

Hipoksi sırasında adenzin trifosfat (ATP) üretimi durmasına rağmen kullanımı devam eder. Yüksek enerjili ATP'nin fosfat bağlarının kırılmasıyla adenzin monofosfat (AMP) oluşur. Daha ileri aşamalarda ATP adenzine kadar indirgenir. Adenzin, inozin üzerinden hipoksantine

indirgeneceği ekstraselüler aralığa hızla dağılır(20). Yapılan bir çalışmada, 2 saatlik iskeminin ATP konsantrasyonunu iskemi öncesi değerinin yaklaşık %40'ına düşürdüğü, bu düşüşün barsak dokusunda AMP'nin yaklaşık 8 kat, hipoksantin 10 kat arttığı gösterilmiştir(21). Normal dokularda hipoksantin, ürik aside dönüşür. Hipokside ise hipoksantin daha fazla metabolize edilemez ve birikir. Aynı zamanda iskemide ksantin dehidrogenazın büyük bir kısmı ksantin oksidaza dönüşür. Bu dönüşümün büyük bir kısmı iskeminin başlaması ile ilk dakikada gerçekleşir. Reperfüzyonun başlaması ile ksantin oksidaz hipoksantini ksantine, sonra da ürik aside dönüştürür. Bu basamakta serbest oksijen radikalleri oluşur.

Uzamış iskemi hücrede metabolik ve yapısal değişikliklere neden olur. İskemi hücresel oksidatif fosforilasyonu azaltır. Hücre membranında adenzin trifosfat (ATP) bağımlı iyon pompası fonksiyonunun bozulması sonucu hücre içine kalsiyum (Ca^{2+}), sodyum (Na^{+}) ve su girişi artar. İskemi sırasında adenin nükleotit katabolizması sonucu hücre içinde hipoksantin birikir. Bu arada endotelde bazı proinflamatuvar ürünlerin (lökosit adhezyon molekülleri, sitokinler) ve biyoaktif ajanların (endotelin, tromboksan A2) yapımı artarken, diğer bazı koruyucu ürünlerin (yapısal nitrikoksit sentaz, trombomodulin) ve biyoaktif ajanların (prostosiklin, NO^{\cdot}) yapımı baskılanır. Böylece iskemi, daha sonraki reperfüzyon döneminde doku zedelenebilirliğini arttıran proinflamatuvar bir durum başlatır(22).

İskemi sırasında hücresel oksidatif fosforilasyonu azalır ve ilk olarak mitokondriler tarafından oksidatif fosforilasyon yolu ile üretilen ATP sentezi durur. ATP (Adenzin trifosfat): Hücrelerin tükettiği enerji çeşididir. Hücre içinde ATP iki yolla üretilir;

1- Memeli hücrelerinde önemli olanı oksidatif fosforilasyondur.

2- İkinci yol glikolitik yoldur, glikoz kullanılır.

ATP Hücre zarından geçmediği için dışarı çıkamaz. Suda çözündüğü için depolanamaz. ATP kaybı hücre içinde çeşitli sistemleri yaygın olarak aynı anda etkiler.

Bunlar;

i. Na⁺-K⁺⁺ATPaz pompa bozukluğu:

Fizyolojik koşullarda hücrede üç sodyum iyonunun hücre dışına, iki potasyum iyonunun hücre içine taşınması işlemi bir ATP molekülünün ADP'ye dönüştürülerek metabolik enerjinin kullanılmasını gerektirmektedir. Özellikle hücre zarının quabain duyarlı ATP aktivitesinin azalması zarda aktif sodyum pompasının yetersizliğine yol açarak hücre içi sodyum birikimi ve hücreden potasyumun dışarı atılımına yol açar. Solid materyalin birikimine izoozmotik su birikimi eşlik ederek akut hücresel şişme oluşur(14).

ii. Hücre içi asidoz gelişimi buna bağlı olarak pH'nın düşmesi:

Hücrede ATP iki yolla üretilir:

- ❖ Glikolitik yol (Glikoliz): Anaerobik (oksijensiz) ortamda glikozun pirüvikasit üzerinden Laktat dehidrojenaz (LDH) enzimi ile laktikaside yıkılması olayıdır. Glikozdan bu yolla 2 ATP'lik enerji sağlanır. Glikolizin amacı, organizmaya gerekli kimyasal enerjiyi O₂ gerektirmeden ve kısa bir yoldan sağlamaktır. Glikolizde, glikoz molekülü başına elde edilen toplam enerji, glikozun oksidasyonu ile elde edilene göre çok azdır. Fakat düşük oksijen basıncında bile, dokuların gereken enerjiyi bu yoldan sağlayabilmeleri yönünden çok önemlidir. İskemide hücreler tarafından kullanılan glikozun % 80-90'ı sitoplazmada anaerobik olarak glikoliz yoluyla kullanılır.
- ❖ Oksidatif fosforilasyon (Sitrikasit çevrimi-Krebs çevrimi): Buna aerobik glikoliz de denilebilir.

Anaerobik glikoliz yoluyla sentez edilen pirüvat ve laktat daha sonra mitokondrilerin içine girer ve burada aerobik glikoliz yoluyla yıkılmaya başlar. Anaerobik glikolizde pirüvikasit, yağ asitlerinin yıkılması sonucu oluşan Asetil-CoA'lar ve birçok aminoasitler Krebs çevrimine girerek yıkılırlar ve organizmanın kullanılabilir enerjisi olan ATP'yi oluştururlar. Bu yolla 36-38 ATP elde edilir. Krebs çevrimi hücrenin mitokondrilerinde gerçekleşir. Glikozun oksitlenmesiyle oluşan ürünler 6CO₂, 6H₂O, 36-38ATP, Çevreye serbestleşen vücut ısısının sağlayan enerjidir.

Anaerobik glikoliz sırasında ortaya çıkan laktat ve pirüvat, glikolizin ilerki evrelerine iletilmediğinde hücre içinde birikirler. Aerobik glikoliz kesinlikle oksijenli ortamda, oksijen kullanarak gerçekleşir. Mitokondrilerdeki oksijen yetersizse aerobik glikoliz gerçekleşemez ve böylece glikozdan enerji üretimi aerobik glikoliz basamağında takılmış olur. Bu durum hücre ve organizma için istenmeyen bazı olumsuz sonuçlar doğurur. Glikozun yıkılımı tam olmaz, buna bağlı olarak üretilecek ATP oranı azalır. Aerobik glikoliz yolu tıkanıldığında hücre büyük oranda ATP kaybeder, çünkü glikoz pirüvat düzeyine kadar yıkılabilmiş, böylece 36-38 ATP yerine yalnız 2 ATP üretilmiştir.

İskeminin ilk dakikalarında aşırı stimüle olan glikolitik yol, ortamda sitrat, laktat, nikotin amid adenin dinükleotid (NADH) birikimi ve doku asidozunun gelişmesiyle inhibe olur. İskemik dokuda var olan oksijen ise oksidatif fosforilasyonu desteklemek için yetersiz kalır ve glikoliz sonucu oluşan piruvatın Krebs siklusuna değil de laktata dönüşü gerçekleşir. Böylece glikojenden ATP oluşumu ile hücre enerji kaynakları korunur. Glikoliz, laktik asit ve fosfat türevlerinden hidroliz sonucu oluşan inorganik fosfat birikimine neden olur. Sonuçta hücre içi pH düşer ve asidoz gözlenir(23).

iii. İntrasellüler Ca^{++} birikimi:

Normal durumlarda sitosolik serbest kalsiyum ekstrasellüler seviyesiyle karşılaştırıldığında hücre içinde düşük konsantrasyonda bulunur ve çoğu da mikokondriler ve ER içinde tutulur. Bu denge membranlar yardımıyla Ca^{++} , Mg^{++} ATPaz tarafından modüle edilir. İskemi ve belirli toksinler erken dönemde sitosolik Ca konsantrasyonunda artmaya neden olur, bu mitokondri ve ER dan Ca^{++} salınımı ve plazma membranının geçen net Ca^{++} akışı nedeniyledir. Hücrede Ca^{++} yükselişi için daha sonra membran permeabilitesinde nonspesifik artışla destek verilir. Artmış Ca^{++} çok sayıda enzimin aktivasyonunu sağlar. Bunlar; Fosfolipaz (membran hasarını başlatır), proteaz (membran ve sitoiskelatal proteinleri parçalar), ATP az (ATP nın azalmasını hızlandırır) ve endonükleaz (kromatin parçalanması ile birlikte) dir(24).

iv. Pürin metabolitlerinin birikimi:

İskemi süresi uzadıkça yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin (ATP) yıkımı başlar, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikir. Hipoksi ve hücre içi kalsiyum birikimi aynı zamanda ksantin dehidrojenazın (XD) ksantin oksidaza (XO) dönüşümüne yol açar. Ksantin dehidrojenazın ksantin oksidaza dönüşümü Ca^{++} bağımlı proteazlar aracılığı ile olur. Bu proteazların aktivasyonu; iskemi esnasında, tümör nekrozis faktör (TNF), interlökin-1 (İL-1), interlökin-3 (İL-3), nötrofillerden salıverilen elastaz ve kompleman aktivasyonu

tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu arada endotelde bazı proinflamatuvar ürünlerin

(lökosit adhezyon molekülleri, sitokinler) ve biyoaktif ajanların (endotelin, tromboksan A2) yapımı artarken, diğer bazı koruyucu ürünlerin (yapısal nitrikoksit sentetaz, trombomodulin) ve biyoaktif ajanların (prostosiklin, NO) yapımı baskılanır. Böylece iskemi, daha sonraki reperfüzyon döneminde doku zedelenebilirliğini arttıran proinflamatuvar bir durum başlatır(25).

İskemik dokuların reperfüzyonu ile iskeminin şiddetine ve süresine bağlı olarak, bir kısım hücre nekroz veya apoptozis ile ölmeye devam eder. Etkilenen dokularda sıklıkla nötrofil infiltrasyonu gözlenir. Parenkimal hücreler, endotel hücreleri ve lökositlerce SOR yapımı artar. Bu arada hasarlı mitokondrilerde oksijen yetersizliği veya alternatif yollardan oksijenin indirgenmesi ile de SOR oluşabilir. Hücrel antioksidan savunma sistemleri de iskemi nedeniyle zayıflar. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar(26).

Apoptozis, programlanmış hücre ölüm mekanizmasıdır. Bir grup protein ve gen ekspresyonunun birlikte işlemesi sonucunda meydana gelir. Gen ekspresyonu ile birlikte çekirdekdeki deoksiribonükleik asit (DNA) kırılır, kromatin çekirdekte yoğunlaşır, çeperde toplanır, sitoplazma büzülür, bu esnada hücre membran bütünlüğü ve mitokondrinin dış yapısı korunur. Sonunda hücre apoptotik cisimcikler oluşturarak parçalanır. Bu cisimcikler yakınındaki yerleşik hücreler, bölgesel makrofajlar, mikroglial

hücreler tarafından abartılı bir inflamatuvar reaksiyon olmadan fagosite edilirler(27).

Nekrotik hücre ölümü ise apopitozdan çok farklıdır. Hücre şişmesi, membran bütünlüğünün kaybı ve belirgin inflamasyon ile karakterizedir. DNA iplikçikleri, apopitozdaki gibi internükleozomal bağlantı noktalarından, düzenli olarak kırılmaz, rastgele olacak şekilde kırılır(28).

Canlı hücrelerinin reperfüzyondan hasar görmelerinde apopitozisin önemli bir faktör olduğu, hem hayvan deneylerinde, hemde klinikte transplantasyon çalışmalarında gösterilmiştir(29).

Reperfüzyon sonucunda pre-apopitotik proteinler olan caspase-3 ve caspase- 8'in aktivasyonu ile apopitoz tetiklenir. Caspase-3 ve caspase-8 birlikte mitokondrial membran yapısında ve fonksiyonlarında bozulmaya yol açmanın yanısıra sitoplazmaya sitokrom C vitamini salınımına ve bunun sonucunda nükleer DNA'nın yıkılarak hücrenin ölmesine sebep olmaktadır(30).

Apopitozu başlatan genler, ölüm sinyallerini hücre dışında bulunan ölüm reseptörleri aracılığı ile hücre içine iletirler. Ölüm reseptörleri, tümör nekrozis faktör (TNF) reseptörünün üst ailesine aittirler ve TNF R-1, FAS ve p75 NTR'yi içerirler. Ölüm sinyalinin dışarıdan gelmesi şart değildir hücre içerisinde hasarlanmış DNA, endoplazmik retikulum veya mitokondride bu sinyalin kaynağı olabilir(31).

Genel olarak özetlemek gerekirse; I/R hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bunlar birbiriyle ilişkileri karmaşık, hücrel ve humoral olaylar serisi olup , İskemik bir dokunun reperfüzyonu dokunun oksijen ve diğer metabolik ihtiyaçlarını karşılarken paradoksal olarak dokularda hasar oluşturur(32).

İskemiye maruz kalan dokunun reperfüzyonu sırasında aynı anda ortaya çıkan reaksiyonlar sonrasında doku hasarı artar.

Bunlar;

- a. **Serbest oksijen radikali oluşumu:** Reperfüzyon ile oksijenin hızla ve aniden dokuya sunumu, purinlerin ksantin oksidaz ile oksidasyonuna ve böylece süperoksit (O_2^-) radikalleri ve urat

oluşumuna neden olur. Süperoksit radikali süperoksit dismutaz ile daha stabil bir molekül olan H₂O₂ ye dönüştürülür. İskemi nedeniyle hücrel antioksidan savunma sistemlerinde zayıflaması ile H₂O₂ demirin katalize ettiği bir reaksiyon ile daha toksik olan OH oluşturur(33,34).

Serbest Radikallerin Hasar Mekanizması

Serbest radikaller bütün hücrel makromoleküllerle reaksiyona girebilirler. Serbest radikallerin hücre membranındaki Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ATPaz üzerine ve hücre içi kalsiyum depolarına etkisi sonucu hücre içi kalsiyum düzeylerini artırdığı gösterilmiştir. Kalsiyum düzeylerindeki artış ise fosfolipaz aktivitesini stimüle ederek serbest araşidonik asit düzeylerini yükseltmektedir. Bunu takiben siklooksijenaz, lipoksijenaz yolları ve araşidonat metabolizması üzerinden, prostaglandin ve lökotrienlerin yanısıra, O₂ ve toksik lipit peroksidleri oluşmaktadır. Oluşan bu peroksidler, siklooksijenaz aktivitesi aracılığı ile vazokonstriktör tromboksan oluşumunu artırmaktadır. Lipoksijenaz yolağı üzerinden oluşan lökotrienler ve PAF'da yine vazokonstriksiyona, kemotaksise ve lökosit adherensine neden olmaktadır. Bütün bu başlangıç olayların endotel hasarına ve graft fonksiyonlarında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir(35).

Hücrel hasar oluşumunda özellikle üç tip reaksiyon önemlidir;

1. Lipid Peroksidasyonu: Serbest oksijen radikalleri, plazma ve organel membranlarında lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Hidroksil radikali membran lipidleri ile çift bağ yapar ve böylece lipid-radikal etkileşimi ile zincirleme reaksiyon sonucu pek çok lipid peroksidasyon ürünü (malondialdehit (MDA), dien konjugatları gibi) oluşur. Eritrosit membranlarının, lipozomal membranların (özellikle hücre ve mitokondri) okside olması ile bu yapıların fiziksel ve kimyasal özellikleri değişir. Membranın iyon geçirgenliği bozular. Eritrositlerde hemoliz olur. Böylece yaygın membran, organel ve hücre hasarı ortaya çıkar.

MDA: Lipid peroksidasyonu, lipid moleküllerindeki iki ansatüre bağ arasında yerleşmiş metilen grubundan bir hidrojen atomunun çıkması ile başlatılan kompleks bir fenomendir. Sonuçta yeni bir karbon merkezli lipid

serbest radikali oluşur. Oksijen varlığında bu yeni lipid serbest radikalinden lipid peroksitler veya hidroperoksitler oluşmaktadır. Bu son ürünler nispeten daha stabil bir son ürün olan ve lipid peroksidasyonunun markeri olarak kullanılabilen MDA'ya dönüşür(6).

2. Proteinlerin oksidatif modifikasyonu: Serbest oksijen radikalleri, aminoasit yan zincirleri oksidasyonuna neden olarak protein-protein bağlarının oluşmasına yol açarlar. Ayrıca protein yapısında, ana zinciri okside ederek proteinlerin parçalanmasına neden olurlar. Böylece hücrede fonksiyonel önemi olan enzimlerde bozulmalar ortaya çıkar.

3. DNA hasarı: Serbest oksijen radikalleri, nükleer ve mitokondrial DNA'da timin ile reaksiyona girerek tek zincir kırılmaları oluşturur. Sonuçta hücrelerin enerji kaybetmeleriyle nekrotik tipte hücre ölümü olur.

Reoksidasyon sırasında allopurinol (ksantin oksidaz inhibitörü), SOD veya CAT uygulamasının endotel hücre hasarını önlediği gösterilmiştir(36,37).

Organizmada oluşan serbest radikaller yukarıda adı geçen SOD, CAT, ve GPx gibi enzimlerin yanı sıra non-enzimatik bir şekilde de süpürülürler.

Enzimatik olmayan bazı serbest radikal süpürücüleri şunlardır;

Mannitol, hidroksil radikallerini mannitol serbest radikallerine dönüştürür. Bunlar da daha sonra diğer mannitol serbest radikalleri ile reaksiyon vererek stabil reaktif olmayan mannitol dimerlerini oluşturur(36). Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin muhtemelen sülfidril grupları aracılığı ile güçlü radikal süpürücü etki gösterdikleri ileri sürülmektedir(36). Albümin, serbest sülfidril grupları ile lipit hidroperoksidler üzerinde süpürücü etki ve peroksidaz benzeri etki gösterir. Lipofilik hipokolesterolemik bir ajan olan probukol de I/R'den sonra böbrekte lipit peroksidasyonunu (LPO) önleyici etki göstermiştir(36). Dimetilsülfoksit (DMSO), OH radikalının güçlü bir süpürücüsüdür. Serbestçe membranı aşarak intrasellüler düzeyde örneğin mitokondride serbest radikal oluşumuna etki eder. Desferrioksamin ve Deferoksamin klinikte demir zehirlenmesinde halen kullanılan spesifik olarak Fe⁺⁺⁺ 'e

bağlanan şelatörlerdir. Bu ajanların renal I/R modellerinde lipid peroksidasyonunu önlediği gösterilmiştir(35). Dimetiltiyöüre (DMTÜ) ise \square OH, H₂O₂, ve HOCl süpürücüsüdür. Lipid membranlarını aşarak hücre içi düzeyde etki gösterir. Bu ajanların renal I/R modellerinde renal fonksiyonlar üzerinde faydalı etkileri gösterilmiştir. Siklooksijenaz inhibitörü indometasin, araşidonat metabolitlerinin azaltarak renal lipid peroksidasyonu azaltmıştır(35). Kalsiyum antagonisti diltiazemin, kalsiyum bağımlı fosfolipaz aktivasyonunu inhibe ederek insanda renal graft fonksiyonları düzelttiği bildirilmiştir.

Serbest radikal hasarı nötrofil aktivasyonunun önlenmesi ile de azaltılabilir. Bu olay teorik olarak NADPH (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) oksidaz aktivitesinin inhibisyonuna dayanır. Lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokörleri, non steroidal antiinflamatuar (NSAI) ilaçlar ve difenilen iodoniyumun invitro nötrofil NADPH oksidaz aktivasyonunu ve fonksiyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Ancak bu ajanlar spesifik olmayan etkileri nedeniyle bazı durumlarda sistemik toksisiteye neden olabileceklerinden kullanımları sınırlıdır(38).

Serbest radikallerin rol oynadığı fizyopatolojik durumlar ve hastalıklardan bazıları şunlardır; Yaşlanma, Kanser, Çeşitli inflamatuvar hastalıklar (Romatoid artrit ve diğer otoimmün hastalıklar gibi), SSS hastalıkları (Epilepsi, Alzheimer hastalığı, Parkinson vb.), Ateroskleroz, Radyasyon hasarı, Diabetes mellitus, Gastrointestinal sistem hastalıkları (ülser, kolit vb.), Hemorajik şok, I/R hasarı.

b- Nitrik oksit (NO) miktarının peroksinitrit (ONOO-) oluşumuyla azalması: İskemik dokunun reperfüzyonu, arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşması ve sıvı filtrasyonunun artmasına, postkapilervenüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızmasına ve böylece mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına neden olur. Reperfüzyonun başlangıç döneminde, mikrosirkülasyonun tüm segmentlerinde aktive edilmiş endotel hücrelerinden fazla miktarda süperoksit radikali (O₂) oluşurken , bu radikalin NO ile reaksiyona girip

peroksite dönüşümü ile ortamdaki NO miktarı azalır. Endotel, nitrik oksit (NO) için en önemli kaynaktır. NO, iskemi reperfüzyon hasarına karşı oldukça iyi bilinen mediatör ve koruyucudur. Nitrik oksit (NO), L-Arginin'in guanidyum grubundan, NO sentetaz (NOS) enzimi aracılığı ile sentezlenen diatomik serbest radikaldir(39). NOS sinir dokusunda, vasküler endotelde, trombositlerde ve diğer dokularda bulunur. NOS'ın, nöronal NOS (tip I, nNOS), indüklenebilir NOS (tip II, iNOS) ve endotelial NOS (tip III, eNOS) olmak üzere farklı lokalizasyon ve düzenlenmeye sahip üç izoenzimi vardır. Nöronal NOS (tip I, nNOS) ve endotelial NOS (tip III, eNOS), Ca⁺⁺ ve Kalmodulin bağımlı esas izoformlardır. Nöronal NOS (tip I, nNOS), nöral iletide foksiyon görür. Endotelial NOS (tip III, eNOS) böbreklerde bulunur. Endotelial NOS (tip III, eNOS) vasıtasıyla oluşturulan nitrik oksit (NO•), vasküler düz kas hücrelerinin relaksasyonu için en önemli sinyaldir.

İndüklenebilir NOS (tip II, iNOS) normal şartlar altında bulunmaz. İnflamasyon veya enfeksiyon durumlarında sitokinler veya endotoksinler tarafından indüklenir ve uzun dönemde bol miktarda üretilir. iNOS hepatositler, makrofajlar, nötrofiller, düz kas hücreleri, kondrositler gibi birçok hücre tipinde indüklenebilir. iNOS vasıtasıyla oluşturulan NO, antimikrobiyal aktiviteye sahiptir ve bu nedenle nonspesifik konak savunma sisteminin önemli bir parçasıdır. Sepsis, astım, romatoit artrit, aterosklerotik lezyonlar, tüberküloz, inflamatuvar bağırsak hastalığı, Helicobacter pylori'nin yol açtığı gastrit, allogreft rejeksiyonu, Alzheimer hastalığı ve multipl skleroz gibi geniş bir hastalık grubunda iNOS'un arttığı saptanmıştır. NO un devamlı ve aşırı üretilmesinin, bu hastalıkların semptomlarının bir kısmından sorumlu olduğu düşünülmektedir. NO vasküler tonusun fizyolojik regülasyonu, platelet agregasyonun inhibisyonu, endotele lökosit adezyonunun engellenmesi, oksijen derive serbest radikallerin temizlenmesi, normal vasküler permeabilitenin idamesi, düz kas proliferasyonunun engellenmesi, immün defansın güçlendirilmesi ve endotel hücrelerinin rejenerasyonu gibi birçok yaşamsal olayda etken bir maddedir. Nitrik oksitin süperoksit dismutaz (SOD) enzimiyle yarışmaya girmesi ve

süperoksit (O_2^-) radikaliyle etkileşmesi sonucu peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşur. Böylece nitrik oksit'in fizyolojik etkisi inhibe edilir, oksidatif etkisi ortaya çıkar. Vasküler tonüsün düzenlenmesi için süperoksit (O_2^-) ve nitrik oksit (NO) arasındaki fizyolojik dengenin önemli olduğu ileri sürülmektedir. Süperoksid radikali ile NO arasındaki dengenin bozulması, endotel hücreleri ve makrofajlardan PAF (trombosit aktive edici faktör), TNF, IL-1 gibi inflamatuvar mediyatörlerin salınımına ve lökosit-endotel hücre adhezyonuna aracılık eden ICAM ve ECAM gibi adezyon moleküllerinin biyosentezinin artmasına neden olur(40).

Sonuç olarak İskemiye maruz kalan endotelyumda, NO salınımında ciddi bir azalma ile karşılaşılır ise oluşacak iskemi-reperfüzyon hasarı fazlalaşacaktır.

b. Nötrofil aktivasyonu: I/R hasarında reaktif oksijen türevlerinin ve makropların nötrofil aktivasyonu ve adezyonuna neden olmak suretiyle doku hasarına yol açtıkları ileri sürülmektedir. Reperfüzyon hasarını önlemeye yönelik antinötrofil serumlarla ya da lökosit adezyon moleküllerine karşı monoklonal antikorlarla yapılan çalışmalar, reperfüzyonda mikrovasküler permeabilitedeki artıştan başlıca nötrofillerin sorumlu olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla I/R hasarında görülen patolojik değişikliklerde nötrofiller önemli bir yer tutmaktadır(40). Nötrofillerin aktivasyonu özellikle venlerde olmak üzere parankimal organlarda fonksiyon kaybına yol açmaktadır. Bu nedenle nötrofillerin endotel hücrelere adezyonu hasarın ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır. Gerek endotel hücresi, gerekse nötrofil kaynaklı O_2 radikalinin etkisi ile NO (EDRF), SOD, KAT ve pek çok antiproteazlar inaktive edilerek proteolitik aktivite güçlenmekte ve böylece de doku hasarı oluşmaktadır.

c. Proinflamatuvar Sitokin salınımı: İskemik dokunun reperfüzyonu ile başlıca dokuda bulunan makrofajlar tarafından dolaşımdaki nötrofillerin ve lenfositlerin inflamasyon bölgesine çekilebilmesi için çeşitli mediatörler salgılanır. Bu mediatörlerin en önemlileri TNF α ve IL-1 β 'dir

Tümör Nekroz Faktörü-alfa (TNF- α): Ciddi bir ameliyata bağlı doku travması veya infeksiyonlar sonucu oluşan inflamatuvar kompleks, bir

proinflamatuvar sitokin döngüsünün başlamasına neden olur. Bu sitokinler arasında TNF- α , konakçı cevabının oluşumuna yol açan ilk ve en potent mediyatörlerden biridir. TNF- α sentezinin kaynağı, periton ve splanknik dokularda çok bulunan monositler, makrofajlar ve T hücreleridir(41).

Kupffer hücreleri, insan vücudunda bir arada bulunan en büyük makrofaj topluluğudur. İç organlardaki cerrahi veya travmatik yaralanmalar, inflamatuvar mediatörlerin oluşumu ve akut faz proteinlerinin yapımı gibi homeostatik cevapların oluşumunda belirgin etkiye sahiptir. Akut travmaya cevap olarak TNF- α salınımı hızlı ve kısa sürelidir. Endotoksin uyarısı ile akut inflamatuvar cevap gelişimini taklit eden deneylerde TNF- α monofazik bir eğri izlediği, 90 dakikada pik yapıp 4 saat içinde ölçülmeyecek düzeye indiği saptanmıştır. Yarı ömrü 15 -18 dk.olmasına rağmen, TNF'ün kısa süreli ortamda bulunması bile önemli metabolik ve hemodinamik değişikliklerin gelişmesine ve döngünün ileri kısmındaki sitokinlerin aktive olmasına neden olur. TNF üretiminin kısa sürmesi, ortamda regüle edilemeyecek kadar çok TNF- α aktivitesinin oluşmasını engelleyen efektif endojen mediatörlerin olduğuna işaret eder. TNF yapımı ve aktivasyonunu engelleyen birçok doğal mekanizma bulunduğu gösterilmiştir(42). Dolaşımda transmembranöz TNF reseptörlerinin (solubl TNF reseptörleri = sTNFR) endojen inhibitörleri saptanmıştır. Bu reseptörlerin kompetitif olarak dolaşımda bulunan fazla TNF'yi sekestirize ederek koruyucu rol aldıkları sanılmaktadır. Fakat muhtemelen düşük düzeyli TNF aktivitesinde ve kısa süre ile bu işlemi yapabilmektedirler. TNF- α ayrıca, stres sırasındaki adale katabolizması ve kaşeksi üzerine de önemli etkileri olan bir sitokindir. İskelet hücresinden mobilize olan aminoasitler hepatik dolaşımdaki şantlar aracılığı ile enerji metabolizmasında kullanılırlar. TNF- α 'nın diğer fonksiyonları arasında; koagülasyonun aktivasyonu, prostaglandin E2(PGE2), platelet aktive edici faktör (PAF), glukokortikoidler ve eikozanoidlerin salınımının arttırılması sayılabilir.

Interlökin-1 (IL-1):TNF- α , makrofajlardan ve endotelial hücrelerden IL-1 biyosentezi ve salınımını indükler. IL-1'in bilinen iki proinflamatuvar türü vardır; IL-1 α ve IL-1 β . IL- 1 α asıl olarak hücre zarı ile ilgilidir ve

etkisini hücrel kontakt aracılığı ile gösterir. Dolaşımında bulunan IL-1 β , IL1 α 'ya oranla daha fazla miktarda sentezlenir ve travmayı takiben oluşan karakteristik sistemik değişiklikleri indükler. IL-1'in etkileri TNF- α 'ya yakındır ve benzer fizyolojik ve metabolik değişikliklere neden olur. IL-1 ve TNF- α düzeyleri yükseldiğinde sitokinler bağımsız olarak bir hemodinamik dekompanzasyona neden olurlar. Düşük dozlarda ise, yalnızca eşzamanlı olarak verildiklerinde aynı yanıt oluştururlar. Bu gözlemler, TNF- α ve IL-1'in proinflamatuvar yanıt oluşturmadaki sinerjistik etkilerini desteklemektedir. IL-1 α 'nın yarı ömrü 6 dk.kadardır. Primer rolü lokal inflamatuvar mediatör olarak davranmaktır. Yarı ömrü kısa olduğundan, akut travma veya hastalık halinde kanda tespit edilme olasılığı TNF- α ya göre daha azdır. IL-1, anterior hipotalamusta lokal prostaglandin etkisini stimüle ederek travmaya karşı oluşan klasik febril yanıtı da indükler. IL-1'in hipotalamustaki tokluk merkezine etkisi sonucunda anoreksia da indüklenmiş olur. Bu sitokin IL-2 yapımını da arttırdığından, dolaylı olarak T hücre proliferasyonuna da katkıda bulunur. Ayrıca, kaşeksinin karakteristik özelliği olan adele proteolizi üzerine de etkilidir. IL-1'in hipofiz bezi üzerine olan etkisiyle β -endorfin salınımının ve santral opioid benzeri reseptörlerin artması ile decerrahi sonrası ağrı algılanmasında azalma olur. TNF gibi, IL-1 de hipotalamus ve hipofiz üzerindeki etkilerinden dolayı ACTH ve glukokortikoid salınımının potent stimulanıdır. IL-1 reseptör antagonistleri (IL-1ra) olarak bilinen non-antagonist IL-1 türevleride travma sırasında salınır. Bu molekül, reseptörlere bağlanmak için IL-1 ile kompetisyona girer, reseptöre bağlandığında ise belirgin bir etki oluşmaz. TNF- α ve IL-1 tarafından başlatılan inflamatuvar döngünün daha distalindeki sitokin mediatörleri ise; IL-2,IL-6,IL-8, granüosit-monosit koloni stimüle edici faktör(GMCSF) ve interferon-gama'dır(43).

Kalsiyum: Reperfüzyon sırasında hücre ve organelleri içinde aşırı Ca⁺² birikimi ciddi doku hasarı gelişiminin en önemli nedenidir. İskemide ortaya çıkan hücre membran hasarı ve gradient farkı nedeniyle Ca⁺² hücre içine girer. Aynı zamanda iskemi-reperfüzyon sırasında, özellikle SOR tarafından

sodyum-potasyum pompasının bozulmasıyla artan hücre içi sodyum Ca^{+2} 'yi daha da artırır. Dışarıdan Ca^{+2} girişinin yanısıra, endoplazmik retikulum da iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı membran zedelenmesi sonucu içerdiği Ca^{+2} 'yi sitoplazmaya bırakır. Normal koşullarda hücre için yararlı olan Ca^{+2} 'nin reperfüzyon sonrasında hücre içinde aşırı miktarda birikmesi sonucu ortaya çıkan hasara kalsiyum paradoksu denilmektedir. Artan hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu ATPaz enziminin inaktivasyonuna neden olur. Böylelikle iskemide zaten azalmış olan ATP depoları daha da boşalır. Hücrede litik görevi olan birçok enzimin Ca^{+2} tarafından aktive edilmesiyle hücre yıkımı başlar. Membran fosfolipidlerinin, aktive olan fosfolipaz tarafından parçalanması sonucu ise hücre bütünlüğü bozulur. İskemi sonrasında endotel ve hücre zarı fonksiyonlarının bozulmasıyla hem hücre içinde, hem de hücre dışında ödem görülür. Endotel hücrelerinde şişme ile damar dışı boşluğa sızan sıvının neden olduğu bası sonucu kapiler damar lümeni daralır ve sonuçta reperfüzyon olsa da mikrosirkülasyonda ciddi yetersizlikler ortaya çıkar. Reperfüzyon ile iskemide bozulmuş mikrosirkülasyonun tam olarak düzeltilememesine “no-reflow olayı” denir. Dokuda ortaya çıkan ödemin yanısıra aktive olan nötrofil ve trombositlerin kapiller dolaşımında kalmaları bu tabloya katkıda bulunmaktadır(44).

2.4. İskemik Önkoşullanma

Kritik bir iskemi periyodundan sonra bir organa kan desteğinin yeniden sağlanması, hasar ve disfonksiyona yol açar ve reperfüzyon hasarı olarak tanımlanır. İskemi-reperfüzyon hasarı genellikle organ nakillerinde, majör organ rezeksiyonlarında ve şokta gözlenir. İskemik önkoşullanma (İÖ), kısa süreli iskemik süreçlerin, daha sonra oluşacak uzun süreli iskemi ve reperfüzyon hasarından organın korunmasını sağladığı adaptif bir cevaptır. İskemik önkoşullanma mekanik veya farmakolojik olabilir.

Tarihçe: Farmakolojik yönden iskemik miyokard koruması Braunwald tarafından gündeme getirildiğinden beri (Maroko ve ark. 1971) 2 dekattır büyük bir hevesle araştırılmakta ancak halen günümüzde miyokard

iskemiye karşı bu Şekilde koruyacak bir ajan klinik kullanımda tedaviye girmemiştir.

İskemik önkoşullama ilk kez Murry ve ark.tarafından 1986 yılında tanımlanmıştır. Köpek koroner arterlerine 4 adet 5'er dakikalık iskemi ve reperfüzyon periyodları sonrasında 40 dakikalık iskekiye oluşan enfarkt alanında iyileşmeyi göstermişlerdir. Kalbin kendini iskekiye dakikalar içinde adapte ettiğini saptamışlardır. Bu olaya klasik iskemik önkoşullanma denmiştir ve bu olay ratlarda (45), tavşanlarda (45) ve domuzlarda (46) olmak üzere pek çok türde gösterilmiştir. Daha yakın zamanda da bu oluşan klasik önkoşullanmanın ardından birkaç gün sonra daha zayıf ikinci bir koruma periyodu oluştuğu gösterilmiştir(47,48). Direkt incelemek mümkün olmasa da insanda da bu olayın gerçekleştiğine dair kanıtlar mevcuttur(49,50). İskemik önkoşullanma, karaciğer, beyin, spinal kord, ve böbrek gibi pek çok diğer doku da oluşturulabilmektedir. Bu olayın varlığı rat ve fare kalbinde ve tavşan spinal kordunda da deneysel oluşturulabilmektedir.

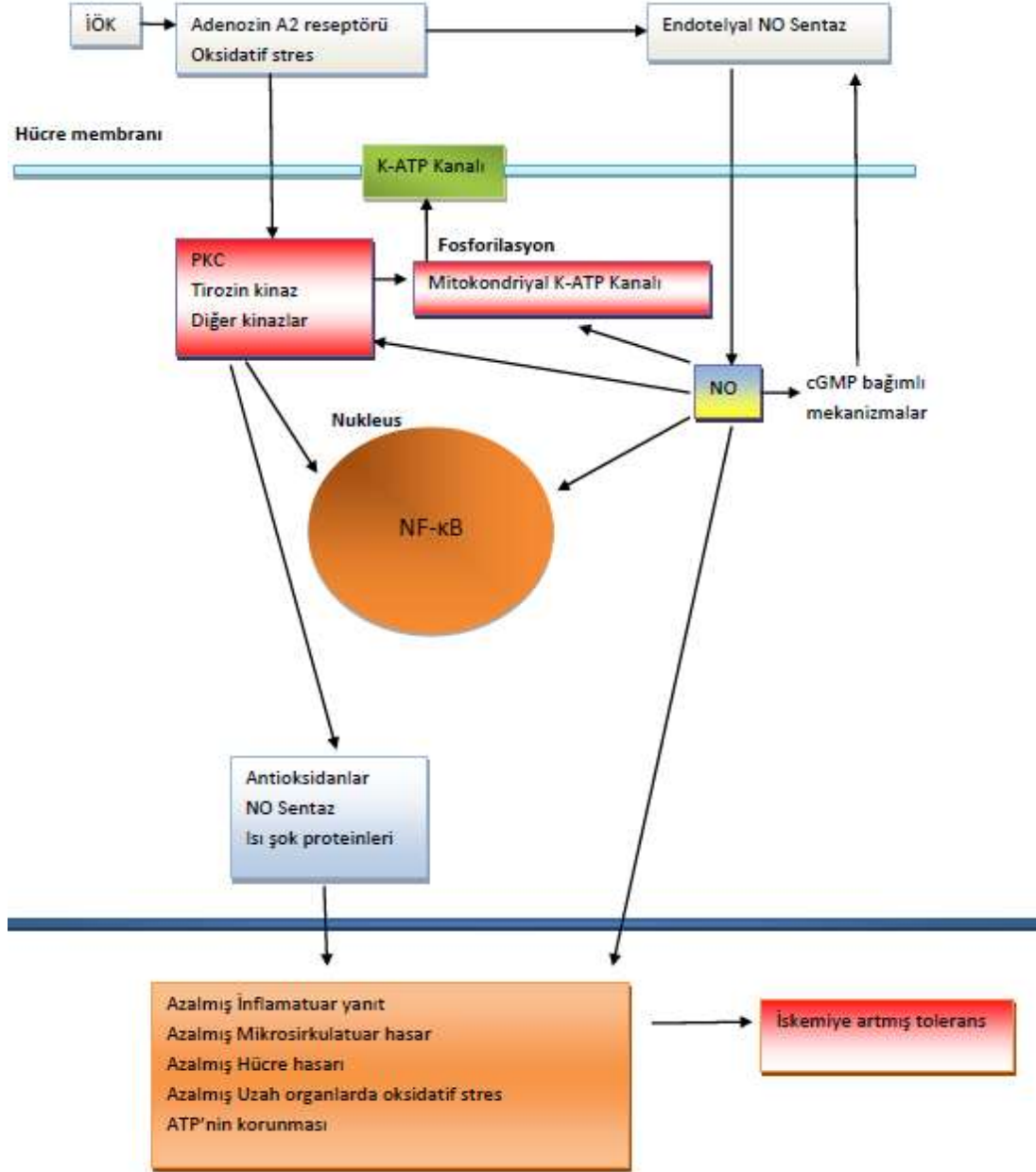
Mekanizma:

İskemik önkoşullanmaya dahil olan moleküller temelde 3 grupta toplanabilir;

Tablo 2.1. İskemik önkoşullanmaya dahil olan moleküller.

a. İskemik önkoşullanmanın tetikleyicileri	b. İskemik önkoşullanmanın mediatörleri	c. İskemik önkoşullanmanın uç efektörleri
<p>A. Reseptöre bağımlı tetikleyiciler</p> <p>I. Adenozin</p> <p>II. Bradikinin</p> <p>III. Opioidler</p> <p>IV. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz ürünleri</p> <p>V. Norepinefrin</p> <p>VI. Anjiotensin</p> <p>VII. Endotelin</p>	<p>1. G Proteinleri</p> <p>2. Fosfolipazlar</p> <p>3. Protein kinaz C</p> <p>4. Tirozin kinaz</p> <p>5. Mitojenle aktive edilen protein kinazlar</p> <p>6. Isı Şok proteileri</p> <p>7. Endotoksin</p> <p>8. TNF-α</p>	<p>1. ATP'ye duyarlı potasyum kanalları (K+ATP)</p>
<p>B. Reseptörden bağımsız tetikleyiciler</p> <p>I. Serbest radikaller</p> <p>II. Nitrik oksit</p>		

III. Kalsiyum



Şekil 2.3. İskemik koşullanma mekanizmaları

2.4. İskemik Sonkosullanma

Son zamanlarda iskemik sonkosullamanın da, iskemik önkosullama gibi, iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu bir yöntem olduğu bildirilmektedir. İlk kez Zhao ve ark tarafından 2002’de yine kalpte tanımlanmıştır(51,52). İskemik sonkosullama uzamıs iskemi sonrasındaki reperfüzyonun erken dönemlerinde uygulanan kısa süreli iskemi ve reperfüzyon periyodları olarak tarif edilir. İskemik önkosullama hem iskemi hem de reperfüzyon hasarına karşı koruma sağlarken, iskemik sonkosullama direkt olarak reperfüzyon hasarına karşı koruma sağlar. İskemik sonkosullamanın hepatik iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi de gösterilmiştir(53). Ayrıca iskemik sonkosullamanın iskemik önkosullama ile birlikte uygulandığında iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi yine kalpte çalışılmış ancak henüz karacigerde çalışılmamıştır.

Sonkosullama Mekanizmaları

İskemik sonkosullama reperfüzyonun erken döneminde mekanik olarak dokunun kanlanması hidrodinamigini değiştirir. Ayrıca reperfüzyon hasarını azaltıcı endojen mekanizmaları stimüle eder. Adenozin ve opioidler gibi ligantlar moleküler yolları stimüle eden proksimal tetikleyicileri etkilerler. Sonkosullama ayrıca p38 ve JNK mitojen-aktive protein (MAP) kinazlar gibi çeşitli yolları inhibe eder, böylece endotel hücre hasarı azalır. Mitokondrial permeabilite geçiş porlarını (mPTP) inhibe eder. Tablo 1’de özetlendiği üzere sonkosullamanın kalp koruyucu mekanizmaları tetikleyiciler, mediatörler ve efektörleri içermektedir(54). İskemik sonkosullama henüz öncelikli olarak kalpte çalışılmakta ve koruyucu mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Altta yatan mekanizmalar serbest oksijen radikallerin gelişiminin ve mitokondriyal kalsiyum aşırı salınımının azaltılmasıdır.

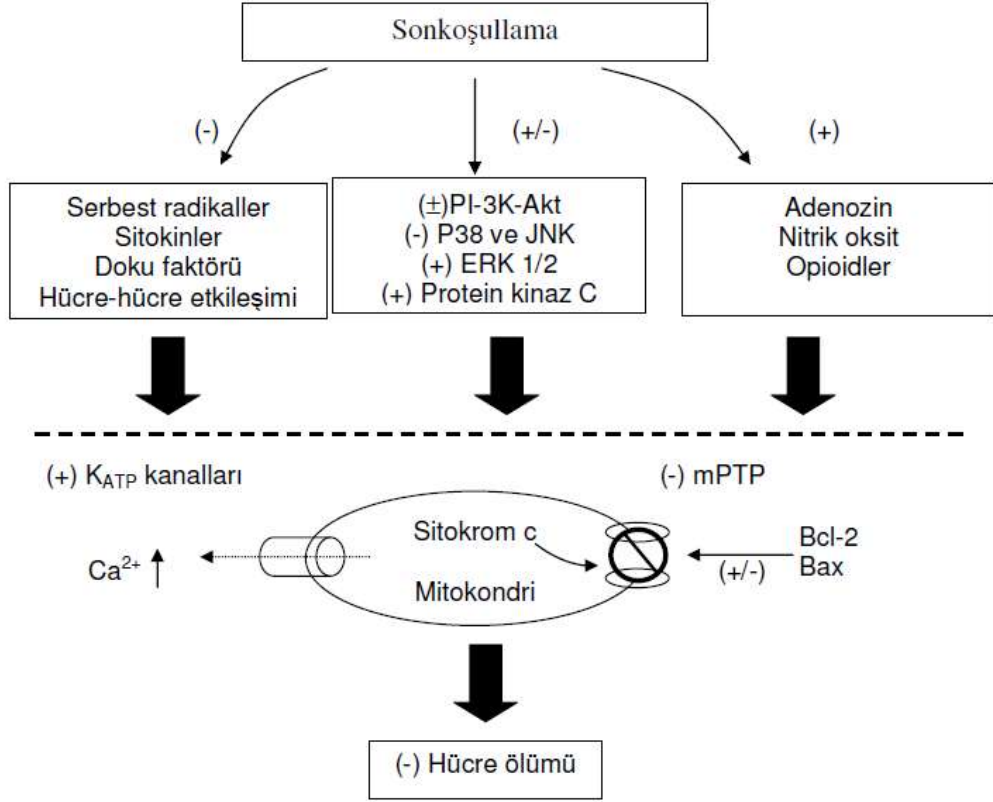
Ayrıca, Yang ve arkadaşları(55) tavşan iskemi reperfüzyon modelinde iskemik

sonkosullamanın, hücre içi sinyalleyici kinazları (ERK 1/2,Akt), mitokondriyal KATP kanallarını ve nitrik oksit salınımını tetiklediğini

gösterdiler. Benzer olarak, Tzang ve arkadaşları, iskemik sonkosullamanın RISK yolu ile uyum içinde prosurvival kinazlar PI3K-Akt, eNOS, ve p70S6K'ı aktive ettiğini gösterdiler(56). Son olarak, Yang ve arkadaşları ile Kin ve arkadaşları ise, iskemik sonkosullama mekanizmalarının adenosin reseptörlerini de içerdiğini gösterdiler. Bu yüzden iskemik önkosullama ile iskemik sonkosullama arasında benzer özellikler vardır. Tablo 2'e bakınız.

Tablo 2.2. Kaynak (57) (deneysel hepatik iskemi reperfüzyonhasarının önlenmesinde iskemik sonkosullama ve etkinliğidir. bak_ aydogan.tez 2006)

Olay	Önkoşullama	Etki/mekanizma	Sonkoşullama	Etki/mekanizma
Tetikleyiciler				
G-protein bağlı reseptörler				
Adenozin	Evet[92,93]	İskemi öncesi A ₁ , A ₃ aktivasyonu	Evet [14,27,51,94]	Reperfizyonda A _{2A} , A ₃ aktivasyonu
Opioidler	Evet[53]	PI-3- kinaz aktivasyonu, mK _{ATP} kanalları açılması	Evet [37]	Bilinmiyor
κ	Hayır[95]	GCPR-PKC-mK _{ATP} aktivasyonu[53]	Evet [37]	Bilinmiyor
δ ₁	Evet [95]		Evet [37]	Bilinmiyor
Bradikinin	Evet [96]		Bilinmiyor	
Doku faktörü /trombin(PAR1)	?		Evet [46]	PAR1 aktivasyonu
Guanil siklaz	Evet		Evet [27,32]	NO hedefi
Medyatörler				
e-NOS-NO				
Sinyalleme	Evet [97]	Mitokondrial kaynak, mPTP kapanması	Evet [17,32,35]	K _{ATP} kanallarının açılması?
Anti-inflamatuar	?		Muhtemelen [10,12]	PMN azalması ve endotelial hücre aktivasyonu
Süperoksit anyonlar	Evet [98]			
Sinyalleme	Evet [97,99,100]	Artmış mitokondrial ROS	Muhtemelen	Mitokondrial?
Oksidatif "patlama"	Evet [100]		Evet [12,13]	Azalmış üretim; [10,12,13,41] artmış endojen antioksidanlar[33]
Protein kinaz C	Evet	K _{ATP} kanalların fosforilasyonu; kinazların aktivasyonu	Evet [27]	Bilinmiyor
PI-3-kinaz	Evet	Artmış eNOS aktivitesi, anti-apoptotik yollar	Evet [28,101,102]; Hayır [26]	Bilinmiyor [27]
ERK 1/2	Hayır		Evet [15,102]	
GSK-3β			Bilinmiyor	
P70S6K				
K _{ATP} kanalları	Evet	ROS, RKC _ε fosforilasyon		
Mitokondrial	Evet [99]	ROS stimülasyonu, kinazlar lehine aktivasyon	Evet [15,19]	Bilinmiyor
Sarkolemmal	Evet; Hayır		Hayır [19]	
Efektörler				
mPTP	Evet		Evet	Kapanma, artmış kalsiyum rezistansı [20,79]



Şekil 2.4. Son koşullanmanın kardiyak korumada görev alan hücre içi ileti yolları ve etkileri.

Farmakolojik Koşullama

İskemi reperfüzyon hasarının etkilerini azaltmak için kullanılan yöntemler arasında farmakolojik koşullama en sık tercih edilenlerden biridir. Farmakolojik koşullama koruyucu (ön koşullama) ve/veya tedavi edici (ard koşullama) olarak uygulanabilir. Bu amaçla böbrek İR hasarında farklı ilaçların kullanıldığı birçok çalışma yapılmıştır. Magnezyum, N-asetil sistein, aktive protein C, alfa melanosit stimüle edici hormon, statin ve deksmedetomidin gibi ajanların İR hasarını azalttığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir.

Pravastatin

Statinler mevcut kolesterol düşürücü ilaçların en güçlü grubunu oluştururlar. Statinler, kolesterol sentezinde hız kısıtlayıcı basamagında 3-hidroksi 3-metil glutaril koenzim A (HMG-CoA redüktaz enzimini geri dönüşümlü olarak inhibe ederek karacigerde kolesterol sentezini azaltırlar.

Ayrıca düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol'ü karaciğerde reseptör aracılı endositozun artırarak plazma LDL kolesterolünü düşürür(58). Statinlerin, LDL kolesterol düşürücü etkileriyle birlikte, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL kolesterol yükseltici ve trigliserid düşürücü etkileri bulunmaktadır. Tedavi ile doz bağımlı olarak yaklaşık LDL %20-50 düşürken, HDL düzeyinde %10 artış ve trigliserid değerinde %10-40 oranında düşüş sağlanmaktadır(59). Statinlerin kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi azaltıcı etkileri birçok primer ve sekonder korunma çalışmasında gösterilmiştir. Bunlardan bazılarının alt grup analizlerinde ise elde edilen olumlu sonuçların sadece lipid düşürücü etki ile açıklanamayacağı görülmüştür. Kolesterol düşüşünden bağımsız olan bu etkiler "pleiotropik etkiler" olarak isimlendirilir. "Pleiotropik etki" olarak da adlandırılan antiinflamatuvar, antiproliferatif ve immünmodülatör özellikleri ile statinler kardiyovasküler sistemin yanı sıra diğer organ sistemleri ve pek çok hastalık için geniş spektrumda bir etki profiline sahiptir. Söz konusu etkilerin sorumlusunun HMG-KoA redüktaz inhibisyonu ile kolesterolün yanı sıra pek çok izoprenoid bileşiğin oluşumunun engellenmesi olduğu iddia edilebilir. Bunlardan farnesil pirofosfat ve geranyl pirofosfat gibi bileşikler posttranslasyonel protein izoprenilasyonu için gereklidir ve proteinlerin yaklaşık %0.5-1 kadarının bu yolla modifikasyona uğradığı bilinmektedir(60).

Statinlerin, antiinflamatuvar ve immünomodülatuar etkileri ile bağışıklık sistemindeki abartılmış yanıtın baskılanmasında faydalı olabileceği öne sürülmüştür. Statinlerin reseptör-li-gand etkileşimini engelleyerek sepsisi baskıladığı düşünülmektedir.

Moleküler düzeyde öne sürülen mekanizma mavelonat yoluyla inhibisyonundan bağımsızdır: statinler β 2-integrin bölgesinden lökosit fonksiyon ilişkili antijene bağlanır ve böylece lenfosit fonksiyonlarına engel olur. Öte yandan, endotel disfonksiyonu üzerine olumlu etkileri ve antitrombotik özellikleri sayesinde statinler sepsis ile tetiklenen koagülopatinin baskılanmasında etkilidir. Sepsis-statin ilişkisinde bir diğer mekanizma heme oksijenaz (HO)-1 adlı indüklenebilir, sitoprotektif

özelliğinde bir ısı şok proteininin aktivasyonudur. Statin tedavisi ile HO-1 konsantrasyonu artar. HO-1 aktivasyonu hem vasküler düz kas, hem de endotel hücrelerinde gerçekleşir ve böylece antiinflamatuar, antiproliferatif, antioksidan etkiler ortaya çıkar(61).

Statinlerin Pleiotropik Etkileri:

1. Statinlerin Antinflatuar Etkileri

Vasküler inflammatuar yanıt trombüs oluşumu, anjiyogenez, neo-intimal kalınlaşma ve ateroskleroza yol açan karmaşık bir süreçtir. Son araştırmalar koroner arter hastalığı ve aterosklerozun diğer belirtilerinde inflamasyonun önemli bir rol oynadığını göstermiştir ve son zamanlarda yapılan çalışmalar ateroskleroz patogenezinde inflammatuar sürecin önemini vurgulamıştır. C-reaktif protein, tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1), interlekin-6 (IL-6), adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve serum amiloid A gibi artmış inflamasyon belirteçleri ilk ve tekrarlayan kardiyovasküler olay riski ile ilişkili bulunmuştur. Ridker ve arkadaşları yaptıkları 5742 kişilik çalışmada serum LDL seviyeleri normal ancak serum CRP (C-reaktif protein) düzeyleri yüksek hastalarda statin tedavisinin koroner olay insidansını azalttığını göstermişlerdir. Benzer çalışmaların artmasıyla statinlerin direkt antiinflamatuar etkileri belirlenmiş ve statin tedavisinin inflamasyonun bir göstergesi olan serum CRP değerlerini azalttığı ve bunu lipid düşürücü etkilerinden bağımsız olarak gerçekleştirdiği gösterilmiştir. C reaktif proteini; endotel hücreler tarafından üretilen nitrik oksit üretimini azaltır ve adezyon moleküllerinin endotelial ekspresyonunu artırır. CRP doku faktörü salınımını artırmasının ve endotel hücrelerdeki öldürücü-T hücrelerinin etkisini potansiyalize etmesinin yanı sıra monositlerin kemotaksisinde ve aterosklerotik plaklarda köpük hücre oluşumunda çok önemli bir rol oynar. Plak oluşumundaki direkt rolünün yanı sıra CRP stabil olmayan plakların vasoreaktivitesini de artırır. CRP gibi akut faz reaktan proteinlerinin statine bağlı olarak azalması statinlerin antiinflamatuar etkisinin güçlü bir göstergesidir. Ayrıca ICAM-1 gibi inflamasyonun başlaması ve devamında önemli lökosit adezyon

moleküllerinin ekspresyonu da statinler tarafından inhibe edilmektedir. Hasara karşı erken vasküler yanıtta lökosit (CD11b gibi) ve endotel hücrelerdeki adhezyon moleküllerinin ekspresyonu artar. Hücresele adhezyonu artırma-sına ek olarak sitokinler kemotaksisi artırır ve vasküler pro-liferasyonu uyarırlar. Statinler sinyal ileten kaskatların reseptöre bağlı aktivasyonunun inhibe ederek inflamatuvar kaskatta bu olayların birçoğunu etkilerler. Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışma pravastatinin MCP-1 ekspresyonunu, monosit infiltrasyonunu ve proliferasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Simvastatinin nitrik oksit eksikliği gösteren kemirgen modelinde, lökositlerin damar duvarında yuvarlanmasını, duvara yapışmalarını ve göçlerini azalttığı bilinmektedir. Simvastatin aynı zamanda endotelial ve monosit adhezyon molekülü salınımını ve monosit CD11b ekspresyonunu azaltır. Sıçanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada pravastatinin serum TNF- α ve IL-1 β seviyelerini düşürdüğü gözlenmiştir. Statinler ayrıca inflamatuvar ve vasküler hücrelerde nükleer faktör kappa B (NF κ B) aktivitesini azaltarak sitokin ve adhezyon molekülü salınımını baskılamaktadırlar. Bu gözlemler statinlerin inflamatuvar prosesi zayıflatmadaki rolünü ve nihayetinde kardiyovasküler hastalıkların riskini azaltmadaki önemini altını çizmektedir(62).

2. Statinlerin Endotel Üzerine Etkileri:

Vasküler endotel, vasküler duvardaki kontraktıl durumu ve hücresele kompozisyonu düzenleyen önemli bir otokrin ve parakrin bir organ olarak hizmet vermektedir. Hiperkolesterolemi endotel fonksiyonunu bozar ve endotel disfonksiyon aterosklerozun en erken belirtilerinden biridir. Endotel disfonksiyonunun genel bir göstergesi endotel kaynaklı nitrik oksit sentez, salınım ve aktivitesinin bozulmasıdır. Statinler; kolesterol seviyesini düşürerek, endotelial nitrik oksit sentezini stimüle ve up-regüle ederek ve oksidize LDL 'nin azaltılması gibi antioksidatif etkileriyle nitrik oksit biyoyararlanımını artırır. Vazo-konstriktör ve mitojen bir madde olan endotelin-1 ekspresyonunu da statinler tarafından inhibe edilir. Bu etkileri sayesinde statinler endotel üzerine olumlu etkiler gösterip aterosklerotik risk faktörlerinin varlığında endotel disfonksiyonu azaltıp hafifletirler. Bu

etkilerinin çoğu Ras (ras ve rho) süper ailesinin küçük moleküler ağırlıklı G proteinlerinin aracılığıyla gerçekleşir. Aktif Ras / Rho proteinler nitrik oksit üretimi ve glikoz metabolizma-sındaki sinyal transducing kinaz kaskadlarında yer alan anahtar bileşenleridir. Bu nedenle, bu proteinlerin inhibisyonu ciddi bir şekilde çeşitli hücrel süreçleri etkileyebilir. Bu küçük G prote-inlerini hücre zarlarına bağlamak prenilasyon gerektirir. Prote-in isoprenilasyon eksikliği sitozolik ayırmaya ve biyolojik aktivite-kaybına yol açar. Statinler HMG-CoA redüktaz enzimini inhi-be etmek vasıtasıyla gösterdikleri kolesterol düşürücü etkilerinin yanı sıra bazı hücrel isoprenoid ara ürünlerini de azaltırlar ve izoprenilasyonu inhibe ederek Ras/Rho proteinlerinin membran seviyelerini ve aktivitelerini etkin bir şekilde düşürür ve vasküler fonksiyonu iyileştirirler(63).

3. Statinlerin İmmünomodulatör Rollerini:

Birçok çalışma statinlerin immünomodulator rollerini olduğunu göstermiştir. Makrofajlar; toksik oksijen metabolitleri, proteazlar, nötrofil kemotaktik faktörler, koagülasyon faktörle-ri, araşidonik asit metabolitleri, nitrik oksit, büyüme faktörleri, fibrojenik sitokinler ve anjiyojenez faktörleri gibi doku hasarın-da ve fibrozda rol oynayan birçok faktörü salgılamak için T hücreleri tarafından üretilen IFN- α tarafından aktive edilirler. Statinlerin bu mekanizmada önemli rolü olan T hücrelerinin pro-liferasyonunu önlediği gösterilmiştir. Ayrıca atorvasta-tin, lovastatin ve pravastatinin antijen sunan hücrelerde MHC-II ekspresyonunu ve MHC-II aracılı T hücresi aktivasyonunu azalt-tığı gösterilmiştir. Statinlerin immünomodulatör etkileri ilk Francois Mach ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. Franco-is Mach ve arkadaşları statinlerin interferon gamma ile indük-lenen MHC-II ekspresyonunu azalttıklarını ve “non-profesyonel” antijen sunucu hücreler olarak adlandırılacaklarını söylemiş-lerdir. Statinler MHC-II ekspresyonuna etkilerinin yanı sıra ayrıca bir dizi immünomodulatör etki gösterirler. Statinlerin ayrıca TNF- α ve IL-1 β gibi inflamatuvar sitokinlerin, IL-8 gibi kemotaktik sitokinlerin ve IL-6 gibi doğal immüniteyle ilgili olan proinflama-tuar sitokinlerin üretimini azalttıkları gösterilmiştir. Buna ek olarak statinlerin inflamatuvar mediyatörlerin salınımını ve lipid

peroksidasyonunu azaltarak oksidatif stres/inflamasyon siklusunu bozduğu bilinmektedir. Statinlerin kronik administrasyonu ayrıca inflamatuvar mediatörler olarak bilinen peroksizom proliferatörünce etkinleştirilen reseptör (PPAR) alfa ve PPAR gamma'yı inhibe etmektedir. Bu özelliklerinden dolayı statinler potansiyel immünosüpresif olarak kabul edilebilirler(64).

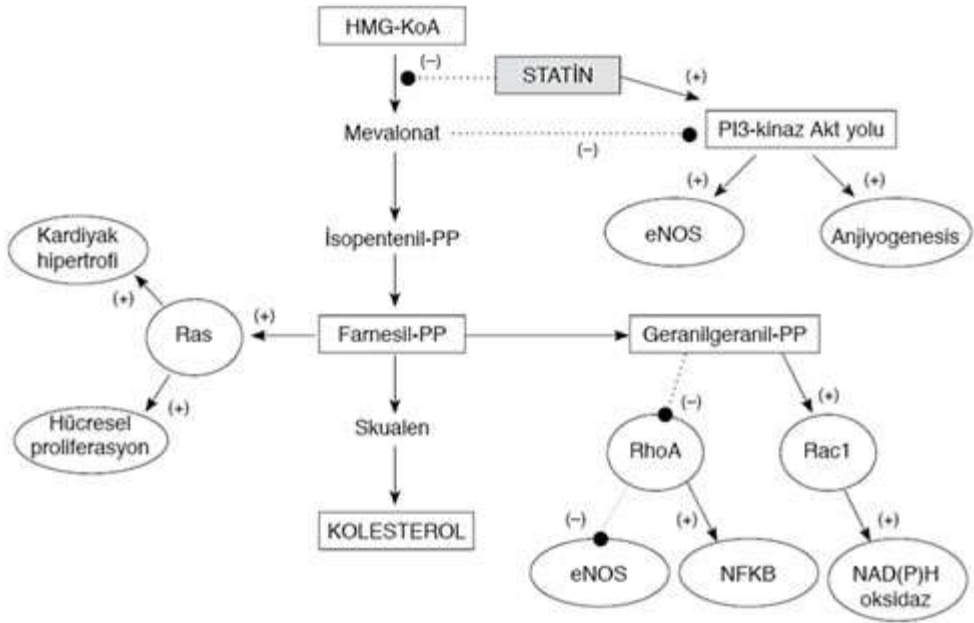
Bu etkiler kısaca; endotel fonksiyon üzerine olan olumlu etkiler, nitrik oksitin biyoyararlanımında artma ve antioksidan özellik, trombosi fonksiyonları üzerine olumlu etkiler aterosklerotik plak stabilizasyonu ve vasküler inflamasyon azaltma şeklinde sıralanabilir.

Statinler, HMG CoA redüktaz inhibisyonu ile kolesterol sentezini engellemekle birlikte önemli izoprenoid intermediyatörlerin de sentezini inhibe etmektedir. Bu intermediyatörler hücre içi çeşitli proteinlerin posttranslasyonel modifikasyonunu engelleyerek NO sentezinin endotel izoformunun aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir. Bu şekilde statinler endotelden NO salınımını artırarak endotel fonksiyonları üzerine olumlu etki yapmaktadır. Ayrıca endotelin-1 seviyesini sentezini de azaltarak endotel fonksiyonlarını iyileştirmek-statin alımından üç saat gibi kısa bir süre sonra akım bağımlı vazodilatasyonda artış olduğu saptanmıştır.

Bir diğerk çalışmada statinler, endotel- kaynaklı vazodilatasyonu, süperoksit ve

hidroksil radikalleri gibi ROS oluşumunu inhibe ederek arttırmıştır. Ayrıca, lipid düşürücü etkileriyle de vasküler oksidatif stresi azaltmaktadır. Statinlerin, Rac-1 aracılı NADH oksidaz aktivitesini inhibe ederek ve anjiyotensin tip-1 reseptör ekspresyonunu azaltarak vasküler düz kasta anjiyotensin 2 ile indüklenen serbest radikal üretimini azalttığı gösterilmiştir(65).

Ayrıca statinler C-reaktif protein seviyelerini düşürerek endotele bağımlı vazodilatasyonu artırıp endotel disfonksiyonunun iyileşmesine dolaylı olarak etki edebilmektedirler.



Şekil 2.5: Kolesterol sentezinin basamakları ve hücre içi ulaklara etkileri

2.5 Böbrek Anatomisi ve Fizyolojisi

- ✓ Böbrek Anatomisi: Böbrekler, retroperitoneal alanda vertebral kolonun yanlarında, 12. torakal ve 3. lumbal vertebralar seviyesinde gerato fasiasının içinde bulunmaktadır. Uzunluğu 12 cm, genişliği 5-7 cm, kalınlığı 3-4 cm, ağırlığı yetişkin erkeklerde ort. 160 gr, kadınlarda 125 gr dır. İç kenarın ortasında hilus renalis bulunur . Böbreğin hilusunda önde renal ven, arkada renal arter ve en arkada renal pelvis bulunur. Lenf damarları renal pelvisin, sinirler ise renal arterin etrafında bulunurlar. Böbrekler uzun ekseninden ikiye kesildiğinde dış kısmında korteks, iç kısmında medulla ayırddedir. Böbreğin medullasında koni biçimli böbrek piramidleri bulunur. Piramidlerin tabanı korteks ile medulla sınırından başlar ve renal papillada son bulur. Pelvisin dış sınırı majör kaliks denilen açık ceplerle aşağı doğru uzanır ve her papillada tüplerden idrar toplayan minör kalikslere ayrılır. Kalikslerin, pelvisin ve üreterlerin duvarları idrarı mesaneye doğru ilerletebilen kasılabilir elemanları içerir(66,67).
- ✓ Böbrek kan akımı: 70 kg'lık normal bir insanda her iki böbreğe giden kanın miktarı dakikada 1200 ml'dir. Renal arter aortadan orjin almaktadır. Sağ renal arter Vena Cava'yı çaprazladığından daha uzundur. Renal arter hilus renalisden böbrek veni ve üreterler ile birlikte böbreğe girer ve interlober, arkuat, interlobuler (radial arter) arterler ve afferent arteriollere ayrılır. Afferent arterioller, glomerüler kapillerleri oluşturur. Her glomerül kapillerinin distal ucu, böbrek tübüllerini çevreleyen ve peritübüler kapiller denilen ikinci bir kapiller ağı oluşturan efferent arteriyolu oluşturmak için bir araya gelirler. Peritübüler kapillerler arteriyoler damarlara paralel seyreden venöz sistemin damarlarına boşalırlar ve bunlar da sırasıyla interlobüler ven, arkuat ven, interlober ven ve en sonunda böbreği renal artere komşu olarak terkeden böbrek venini oluştururlar. Böbreğe gelen kanın büyük bir çoğunluğunu renal korteks almaktadır. Böbrek medullasına giden kan, peritubuler kapiller sistemin özelleşmiş bir kısmı olan vaza rektatarafından sağlanır. Bu damarlar medullada Henle kıvrımlarına paralel olarak derinlere ilerler ve sonra kortekse dönerek venöz sisteme dökülürler.

Vaza rektalar böbreklerin konsantre idrar yapmasında önemli rol oynarlar(68).

- ✓ **Böbrek fizyolojisi:** Böbrekte idrarın yapıldığı morfolojik üniteye nefron adı verilir. Her böbrek yaklaşık bir milyon nefrondan oluşur ve 40 yaşından sonra işlev gören nefron sayısı her on yıl için %10 azalır. Nefronun; kandan sıvının filtre olduğu glomerül ve bu sıvının idrara dönüştüğü toplayıcı tübül olmak üzere iki ana bölümü vardır. Glomerül yüksek hidrostatik basınca (60 mmHg) sahip kapiller bir ağdan oluşmuştur. Kapillerler epitel hücreleri ile örtülmüştür ve bowman kapsülü ile sarılmıştır. Glomerüler kapillerden filtre olan proteinsiz fazla miktarda sıvı bowman kapsülü içine ve sonraproksimal tübül içine oradan böbrek medullasında bulunan henle kulbunun inen ve sonrasında çıkan koluna doğru akar. Çıkan kolun sonundaki plak içeren kısma makula densa denir. Sıvı makula densadan distal tübüle ulaşır. Distal tübülü birleştirici (connecting) tübül ve kortikal toplayıcı (collecting) tubül izler. Sıvı buradan kortikal toplayıcı kanala ulaşır. 8-10 adet kortikal toplayıcı kanalın başlangıç kısımları birleşerek, medullada seyreden ve medüller toplayıcı kanal denilen daha geniş bir toplayıcı kanal yaparlar. Toplayıcı kanallar sonunda papillanın tepesi aracılığı ile böbrek pelvisine boşalırlar. Proteinler hariç plazmadaki maddelerin çoğu serbestçe bowman kapsülü içine filtre olduğu için bu maddelerin konsantrasyonları plazmadakine eşittir. Glomerüler filtrasyon hızı (GFR); kapiller membrana etki eden kolloid osmotik basınç ve hidrostatik basınç arasındaki denge ile kapillerin filtrasyon yapan yüzey ve geçirgenliğinin ölçütü olan kapiller filtrasyon sabitesi tarafından tayin edilir. Normal yetişkin bir insanda GFR 125 ml/dakikadır(68).

Glomerüler kapiller membran (filtrasyon bariyeri):

- 1. Kapiller endotel:** Yapısında binlerce küçük aralık vardır.
- 2. Bazal membran:** Endoteli çevreler, kollagen ve proteoglikan fibril ağından yapılıdır. Proteoglikanların negatif elektrik yüküne sahiptir ve plazma proteinlerinin geçişini önler.

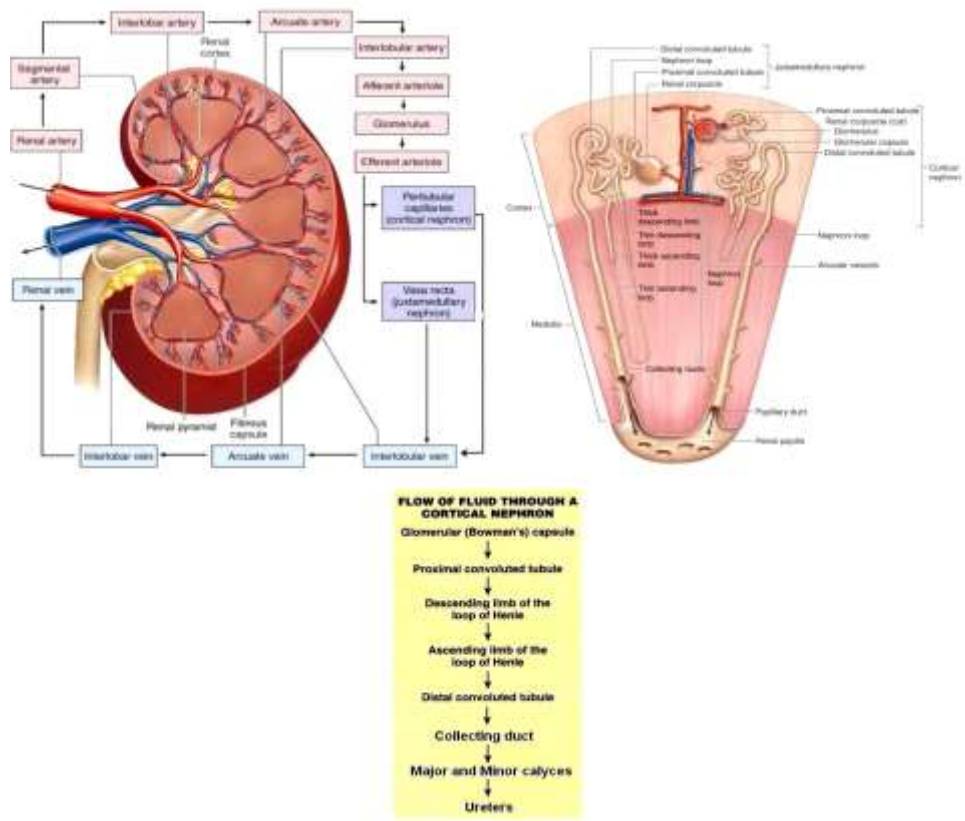
3. Epitelyal hücre (podosit): Glomerülün dış yüzünü döşer. Renal medulladan salınan epinefrin, norepinefrin, böbrek damarlarının hasar görmüş endotel hücrelerinden salınan endotelin ve ayrıca anjiotensin II afferent arteriyolları daraltarak GFR'yi düşürür. Endotelden kaynaklanan nitrik oksit, PGE2, PGI2 ve bradikinin afferent arteriyolların daralmasını önler ve böbrek damar direncini azaltarak GFR'yi artırır.

Arteriyel kan basıncındaki değişikliklere rağmen böbrek içi feedback mekanizmalar böbrek kan akımını ve GFR'yi sabit tutarlar. Kan basıncında 75 mmHg'ye varan düşmeler ve 160 mmHg'ye varan yükselmeler GFR'de sadece %1-2 kadar değişikliğe neden olur.

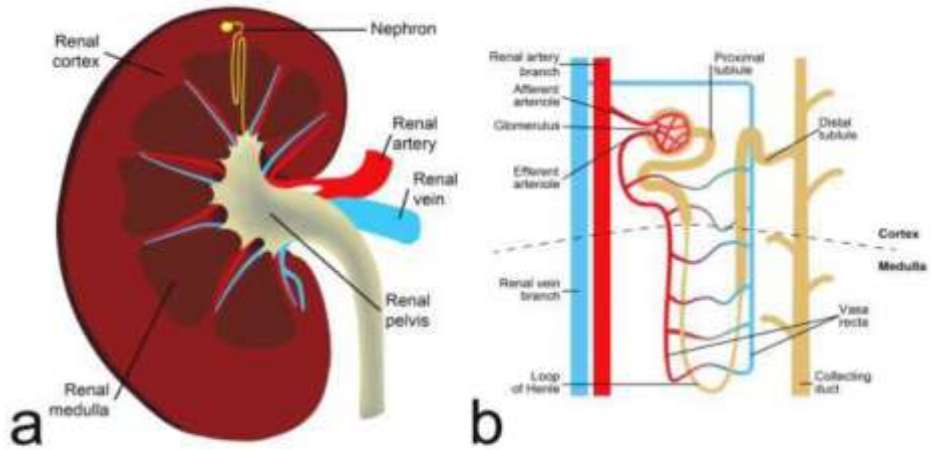
Bu feedback mekanizma makula densadaki sodyum klorür yoğunluğu değişiklikleriyle renal arteriyoller direncin kontrolü arasındaki ilişkiye bağlıdır. Bu feedback, distal tubule oldukça sabit miktarda sodyum klorür gönderilmesini garantilemeye yardım eder.

Tübüloglomerüler feedback mekanizmanın afferent ve efferent arteriyoller feedback mekanizma olarak adlandırılan iki komponenti vardır. Jukstaglomerüler kompleks distal tübülün başlangıcındaki makuladensa hücreleri ile afferent ve efferent arteriyolların duvarlarındaki jukstaglomerüler hücrelerden oluşur. Makula densa distal tubulde afferent ve efferent arteriyollerle temas eden bir grup özelleşmiş epitel hücreleridir. Sodyum klorür yoğunluğundaki azalma makula densadan, iki etkiye sahip bir uyarıyı başlatır; afferent arteriol direncini azaltarak glomerüler hidrostatik basıncı artırır ve GFR'nin normale dönmesine yardım eder. Buna ek olarak reninin jukstaglomerüler hücrelerden serbestlenmesini artırır.

Tübül obstrüksiyonu ve glomerüler filtratın ilerleyici geriye doğru sızıntısı GFR'yi düşürür. Dış medullada yerleşmiş olan proksimal tubulün pars rektası ve daha az olmak üzere henle kulbunun çıkan kolu iskemik hasara en hassas nefron segmentidir. Bunun sebebi belki de aktif solut transportu için yüksek ATP ihtiyacı göstermesi ve dış medullanın diğer bölgelerinden daha hipoksik olmasıdır.



Şekil 2.6. Böbrek kan akımı ve glomerül yapısı



Şekil 2.7. (a) böbreğin koronal kesiti; (b) Nefronun şematik diyagramı (Zhang ve ark 2013)

2.6 Akut tübüler nekroz ve renal iskemi - reperfüzyon

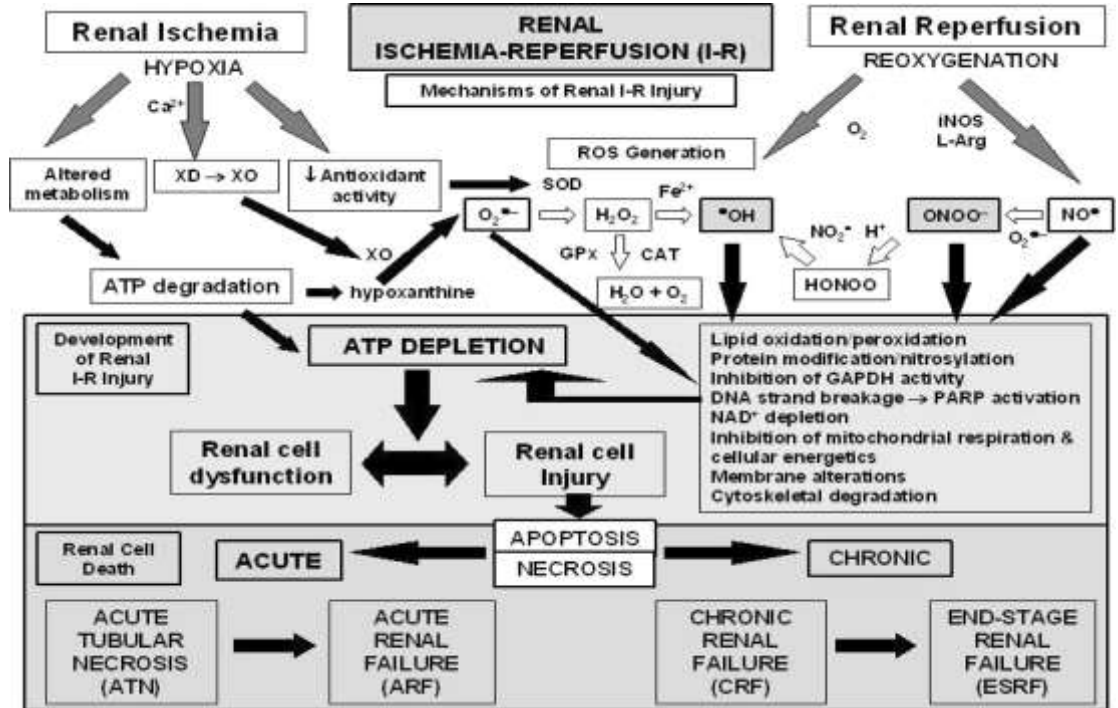
İskemik hasar akut böbrek yetmezliği (ABY)'nin oluşmasında ve devam etmesindeki

tek faktör değildir. Çoğu zaman iskemik hasar ile, kısa süreli de olsa ABY tablosu gelişmekte ve uzunca bir süre de devam edebilmektedir. Akut tübüler nekroz (ATN) gelişen hastaların böbrek dokuları morfolojik olarak incelendiğinde, nekrozun çoğunlukla olmadığı ya da fokal olduğu belirtilmiştir. Patolojik kesitlerde tübül epitel hücrelerinin dkldğu ve bu dökülmelerden dolayı tübül bazal membranlarında yer yer boş alanların olduğu rapor edilmiştir. Nekroz olmaksızın da ölümcül olmayan hasara bağlı ATN tablosu gelişebilir(74).

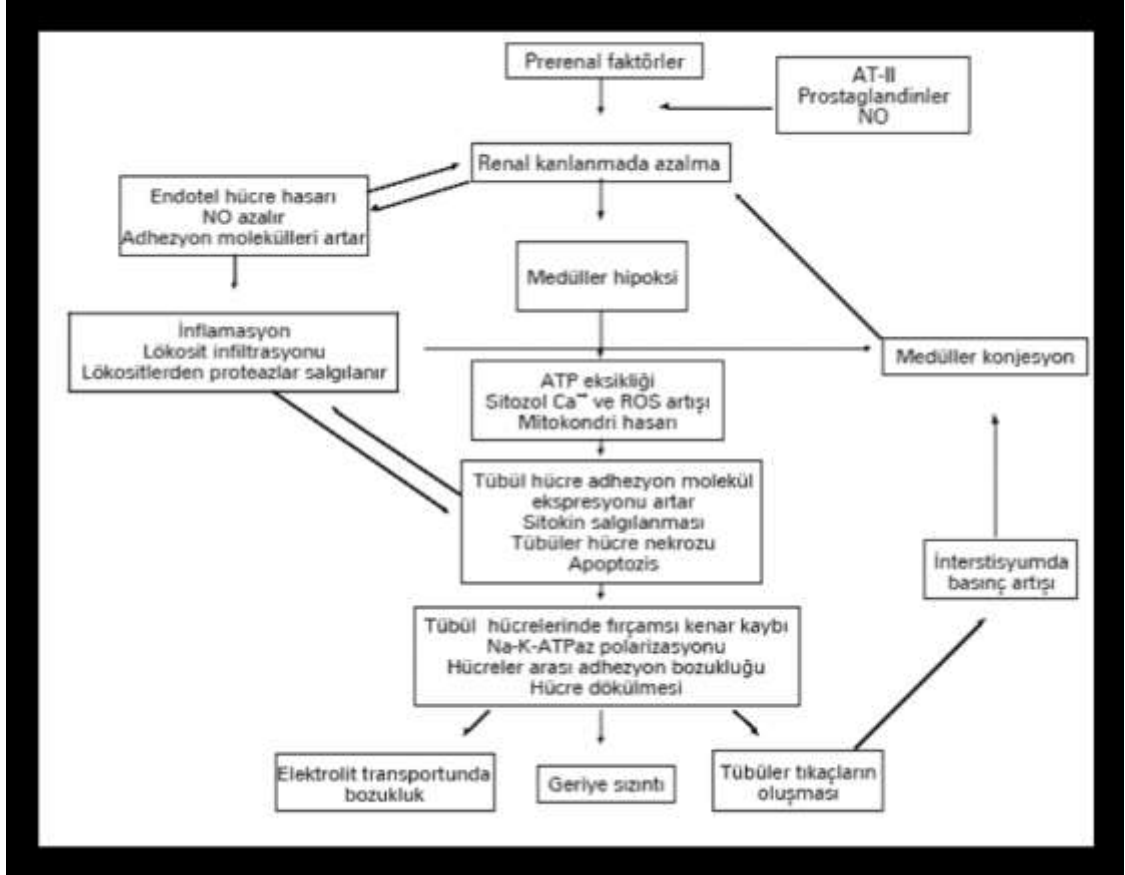
İskemik hasar sırasında gelişen hücre içi bir dizi metabolik olay çeşitli şekillerde hücre ölümüne sebep olur. Bu değişiklikler arasında ATP eksikliği, hücre içi pH değişiklikleri, intraselüler Ca⁺⁺ miktarının artması, serbest radikallerin artması, apoptozis gibi değişiklikler yer alır. ABY vakalarının önemli bir kısmında prerenal ABY söz konusudur. Prerenal faktörlere kısa sürede müdahale edilirse ölümcül olmayan hasarın, apoptozisin veya nekrozun gelişmesi nlenebilir(69).

İskemik böbrekte vazokonstriktör maddelerin etkisine karşı aşırı bir hassasiyet ve vazodilatör maddelerin etkisine karşı da bir direnç söz konusudur. Oksijenlenmenin bozulması ile artan intraselüler kalsiyum birikimi afferent arteriyollerdeki direnç artışı ile ilişkilidir. Ca⁺⁺ kanal blokerlerinin kaybolan otoregülasyonu düzeltmesi ve renal sinir inervasyonuna olan sensitiviteyi azaltması bir kanıt olarak sunulmaktadır. Ayrıca intraselüler Ca⁺⁺ , intraselüler proteazları ve fosfolipazları da aktive ederek hücre nekrozuna sebep olur(70). Hipoksinin devam etmesi ve inflamatuvar cevap, ABY'nin uzama fazında rol oynamaktadır. Her iki olay da medullanın dış kısmında yer almaktadır. Normal fizyolojik şartlarda oksijen basıncı korteksten medullaya doğru inildikçe azalmaktadır. ATN'un başlangıcındaki iskemik olay düzelse bile, kan akımı bozuklukları ATN geliştikten sonra da devam etmektedir. Reperfüzyon sırasında kan akımında %40-50 oranında azalma devam eder. Kan akımındaki bu azalma tam açıklanamamakla birlikte endojen vazokonstriktrlere karşı antagonistler

kullanıldığı zaman düzeldiğine dair bulgular rapor edilmiştir(73). Hayvan modellerinde endotel geçirgenliğinin iskemik ABY sonrasında arttığı bilinmektedir. Gelişen interstisyel ödem kan akımını, medulladaki damarlara bası uygulayarak daha da bozabilmektedir. Plazmanın damar dışına kaçağı sonrası hemokonsantrasyon gelişir ve dolaşım daha da bozulur. Bu durum lökositlerin endotel hücreleri ile karşılaşması olasılığını arttırmaktadır(72). Eritrositler ve lökositlerin medullada biriktikleri deney hayvanlarında gösterilmiştir. Endotel hücrelerinde P ve E selektin ekspresyonu arttığından, lökositlerin endotel hücrelerine adhezyonu artar. Aynı şekilde ICAM-1 ekspresyonu da artmaktadır. ICAM-1'e karşı antikorların kullanılması ile iskemiden korunulması, adhezyon moleküllerinin ATN gelişimindeki rolünü göstermektedir. Hasarlı endotel hücrelerinin nitrik oksit salgılamaları da bozulmaktadır. Bu olayları takiben lökosit adhezyonu ve infiltrasyonu ile vazokonstriksiyon ve lokal kan akımındaki azalma (konjesyon) bir kısır döngü halinde devam eder. Sonuçta GFR'de azalma ile birlikte subletal hasardan apoptozise ve nekroza kadar gidebilen bir tablo gelişir(70,71).



Şekil 2.8. Renal iskemi-reperfüzyon hasarı mekanizması (Prabal K. Chatterjee: Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: a comprehensive review. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 376:1–43,2007)



Şekil 2.9. İskemik ve akut tübül nekroz (ATN) patogenezinde rol oynayan faktörlerin şematik görünümü.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi TİCAM araştırma laboratuvarında Etik Kurul (10.10.2013 tarihli 365 karar numaralı) onayı alındıktan sonra yapıldı. Çalışmada ağırlıkları 250-350 gr arasında değişen Sprague-Dawley cinsi dişi toplam 80 rat kullanıldı. Ratlar standart laboratuvar ortamında rat yemi ve musluk suyu ile beslendi. Bütün hayvanların anestezisi 12 saatlik açılığı taakiben, 50 mg/kg Ketamin Hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı Warner-Lambert ilaç sanayi, Levent, İstanbul) ve 7 mg/kg xylazine Hidroklorit' in (Rompun, Bayer Şişli, İstanbul) aseptik şartlarda intramusküler verilmesi ile sağlandı. Ratlar randomize olarak dört gruba ayrıldı.

Tablo 3.1. Grup Dağılımı

		24.saat	48.saat	Toplam	
I.	Grup	Sham grubu	n=8	n=8	n=16
II.	Grup	Kontrol grubu	n=8	n=8	n=16
III.	Grup	Reperfüzyon sonrası böbrek iskemisi(iskemik sonkoşullanma) grubu	n=8	n=8	n=16
IV.	Grup	Reperfüzyon sonrası uzak organ(karaciğer iskemik sonkoşullanma) grubu	n=8	n=8	n=16
V.	Grup	Reperfüzyon sonrası pravastatin(farmakolojik sonkoşullanma) tedavi grubu	n=8	n=8	n=16

Tüm gruplara laparotomi; Karın bölgesi tıraşlanıp %10 povidone iodine solüsyonu (Merkez San. Ltd. Sti. İstanbul, Türkiye) ile uygun sterilizasyon sağlandıktan sonra midline insizyonla yapıldı.

Sham grubundaki hayvanlara sadece laparotomi ve organ(karaciğer-böbrek) pedikül diseksiyonu yapıldı.

Diğer gruplarda böbrek iskemisi: Karın orta hattın açıldıktan sonra karın içine ulaşıldı ve eksplorasyonda sağ ve sol böbrek pedikül bulundu ve disseke edilerek askıya alındı. Omentum ve barsaklar aksi yöne devriye edilerek ilk önce sağ nefrektomi yapıldı ve kanama kontrolü yapıldı. Sol böbrek arteri bulunup etrafından dönüldü. Böbrek arteri böbrek seviyesinde

arteryel bulldog klemp (Vascu-statts, Scanlan, USA) vasıtasıyla klemlendi. Pulsasyon olmayışı ile arteriel kan akımının olmadığı anlaşıldı. 45 dk'lık iskemi sonrası klemler kaldırıldıktan sonra böbrek renginin açılması ve pulsasyonun görülmesi ile arteriovenöz akımın tekrar başladığı anlaşıldı. İşlemler sonlanıncaya kadar sıvı kaybını önlemek için karın içine serum fizyolojik ile ıslatılmış spanç yerleştirildi.

Diğer gruplarda karaciğer iskemisi: 10 dk renal reperfüzyonu takiben karaciğer pedikülüne portal ven safra kanalı ve hepatik arteri içine alacak şekilde küçük bulldog vasküler klemler konularak 10 dakika süre ile iskemi sağlandı.

Pravastatin grubu; farmakolojik sonkoşullanma, renal reperfüzyonu takiben intraperitoneal uygulanan 15 mg/kg(120) dozunda pravastatin uygulanmıştır.

Laparotomi sonrası iskemi uygulamaları biten ratlar prolene dikiş (4/0 polypropylene, Prolene®; Ethicon, USA) ile kapatıldı. 24 ve 48 saatlik reperfüzyon sonunda ilgili gruplardaki ratlara yukarıda tariflenen anestezi uygulamasını takiben relaparotomi yapıldı.

Bütün gruplarda bulunan ratlar randomize olarak 24 ve 48 saatlik iki alt gruba ayrıldı. 24 ve 48 saat sonrası biyokimyasal, histopatolojik böbrek doku ve ultrastrüktürel çalışmalar amacı ile kan ve doku örnekleri alınarak dekapite edildi.

Her gruptan alınan böbrek dokuları üç eşit parçaya bölündü. Doku parçaları aşağıda tariflenen prosedüre uyularak histopatolojik inceleme, elektromikroskopik inceleme ve doku biyokimyasal inceleme için ilgili bölümlere ulaştırıldı.

Tüm ratlardan intrakardiyak ponksiyonla biyokimyasal inceleme için 5 cc kan örneği alındı. Alınan kan örnekleri vakumlu jelli tüplere (BD Vacutainer SST, UK) konuldu tüplerle biyokimya laboratuvarına gönderildi ve deney sakrifikasyonla sonlandırıldı.

3.1. Biyokimyasal Ölçümler

Uygulanan işlemler sonrasında tüm ratlardan kan ve böbrek dokusu örnekleri alındı. Kan örnekleri 4000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri elde edildi. Serum ve doku örnekleri alikotlanarak deneylerde kullanılmak üzere -80 °C' ye kaldırıldı.

Serum örneklerinde rutin parametrelerden Na, K, Cl, BUN, Kreatinin, Kreatin kinaz ve ALP; ayrıca Malondialdehit düzeyi; Miyeloperoksidaz aktivitesi ve Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- α) düzeyleri ölçüldü. Doku örneklerinde ise Malondialdehit düzeyi ve Katalaz aktivitesi ölçümleri yapıldı. Doku protein miktar tayini için Biüret yöntemi uygulandı.

Malondialdehid (MDA) Ölçümü:

Serum ve doku örneklerindeki MDA düzeyini belirlemek için, Ohkawa ve ark. (1979) tarafından bildirilen yönteme göre, spektrofotometre cihazında (Shimadzu UV-1601 UV-vis Spectrophotometer, Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan) 532 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri yapıldı. MDA düzeyleri serum için nmol MDA/ml ve doku için ise mg protein başına nmol MDA olarak hesaplandı. Standart olarak 1,1,3,3 tetraetoksipropan (Sigma T9889) kullanıldı.

MPO Aktivitesi Ölçümü:

Serum örneklerindeki Miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi Suzuki ve ark. (1983) tarafından bildirilen yönteme spektrofotometre cihazında (Shimadzu UV-1601 UV-vis spectrophotometer, Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan) 655 nm dalga boyunda absorbans artışı takip edilerek ölçüldü ve bir dakikadaki MPO aktivitesi U/ml olarak hesaplandı.

Tümör Nekroz Faktör Alfa Ölçümü:

Serum Tümör Nekroz Faktör Alfa ölçümü ELISA Kiti (Rat TNF- α Platinum ELISA, eBioscience, Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria) (Kit Katalog No:BMS622) kullanılarak ELISA cihazı (VICTOR™ X3 Multilabel Plate Reader, PerkinElmer, Inc., Waltham, USA)' nda 450

nm dalga boyunda yapıldı. Örneklerdeki TNF- α konsantrasyonları pg/ml olarak ifade edildi.

Katalaz Aktivitesi Ölçümü:

Doku Katalaz aktivitesi ölçümü Beutler (1986) tarafından bildirilen yöntemine göre yapıldı. Hidrojen peroksitin su ve oksijene katalaz tarafından bozunum hızı spektrofotometre cihazında (Shimadzu UV-1601 UV-vis spectrophotometer, Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan) 230 nm dalga boyunda absorbans düşüşü takip edilerek ölçüldü. Katalaz spesifik aktivitesi U/mg protein olarak hesaplandı.

Protein Tayini Yöntemi

Doku örneklerinde total protein düzeyi Gornall ve ark.(1949) tarafından bildirilen; alkali koşullar altında Cu^{+2} iyonlarının aminoasit, peptid, protein ve biüret gibi bileşiklerle mavi-mor renkli kompleks oluşturması esasına dayanan Biüret yöntemine göre yapıldı. Oluşan renkli kompleksin absorbansı spektrofotometrik olarak 550 nm dalga boyunda ölçüldü. Standart olarak bovin serum albumin kullanıldı.

3.2. Histopatolojik İncelemeler

Böbrek doku örneklerindeki histopatolojik incelemeler Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Histopatolojik inceleme için alınan her bir böbrek parçası %10 formaldehitte fikse edilerek daha sonra alkol ile dehidrate edildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Işık mikroskopisinde inceleme yapılması için parafin bloklardan ince kesitler elde edildikten sonra bu kesitler hemotoksilen-eozin boyasıyla boyanarak histolojik değişiklikler kantitatif olarak değerlendirildi.

Konjesyon, nekroz, silendir, vakuolizasyon parametreleri(hiç gözlenmiyor 0, böbreğin %20 sinden azını etkiliyor 1, böbreğin % 20-40 etkiliyor 2, böreğin %40-60 mı etkiliyor hiç gözlenmiyor 0, böbreğin %20 sinden azını etkiliyor 1, böbreğin % 20-40 etkiliyor 2, böreğin %40-60 mı etkiliyor 3, böreğin % 60 indan fazlasını etkiliyor 4) değerlendirildi(84).

3.3. Geçirimli Elektron Mikroskop Doku Takibi (TEM)

Örnekler zaman kaybetmeden 0.1 M fosfat tampon içeren % 2.5'luk glutaraldehit içinde 24 saat 4°C'de primer fiksasyona alınmış, sonra fosfat tamponuyla 3 kez 15'er dakika yıkanmışlardır. Daha sonra 0.1 M fosfat tampon içeren %1'lik osmiyum tetroksit içinde, oda sıcaklığında ve rotatorda 2 saat sekonder fiksasyonları sağlanmış, devamında dokular tamponla tekrar 3 kez yıkanmışlardır. Dokudaki fazla suyun alınması (dehidrasyon) için örnekler giderek artan derecelerde ve 4°C'de ikişer kez belirli sürelerde etil alkol serilerinden geçirilmiş (%30, %50, %70, %90, %96, %100 (son yıkama ve sonraki işlemler oda ısısında) ve propilen oksitte 30 dk boyunca (iki kez) şeffaflaştırma işlemine alınmışlardır. 1/1 oranında propilen oksit- araldite karışımında 2 saat rotatorda bekletildikten sonra saf araldite alınan dokular bir gece boyunca rotatorda tutulmuşlar ve ertesi gün araldite gömülerek 60°C'de 48 saat polimerize edilmişlerdir.

Elde edilen bloklar ultramikrotomda (Leica Ultracut R) 700 nm kalınlığında kesilerek toluidin mavisiyle boyanmış ve biyofilm olması muhtemel olan yüzey kısımları ışık mikroskopunda (Olympus BX50) incelenmiştir. TEM'de görüntülenmesi istenilen alanlar belirlendikten sonra dokular tekrar trimlenmiş ve ultramikrotomda 60 nm kalınlığında tam ince kesitleri alınmıştır. 300 meshlik bakır gridlere alınan bu kesitler uranil asetat-kurşun sitrat ile boyandıktan sonra JEOL JEM 1220 marka ve modeldeki TEM de incelenmeye alınmışlardır.

3.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel çalışmalar Osmangazi Üniversitesi Biyoistatistik Anabilim Dalında yapıldı. Verilerin istatistiksel olarak karşılaştırılmasında; MDA tayini ve histopatolojik değişkenlerin 5 grup arası karşılaştırmalarda iki yönlü tekrarlı ölçümler varyans analizi (Two way repeated measures Anova One factor repetition) kullanıldı.

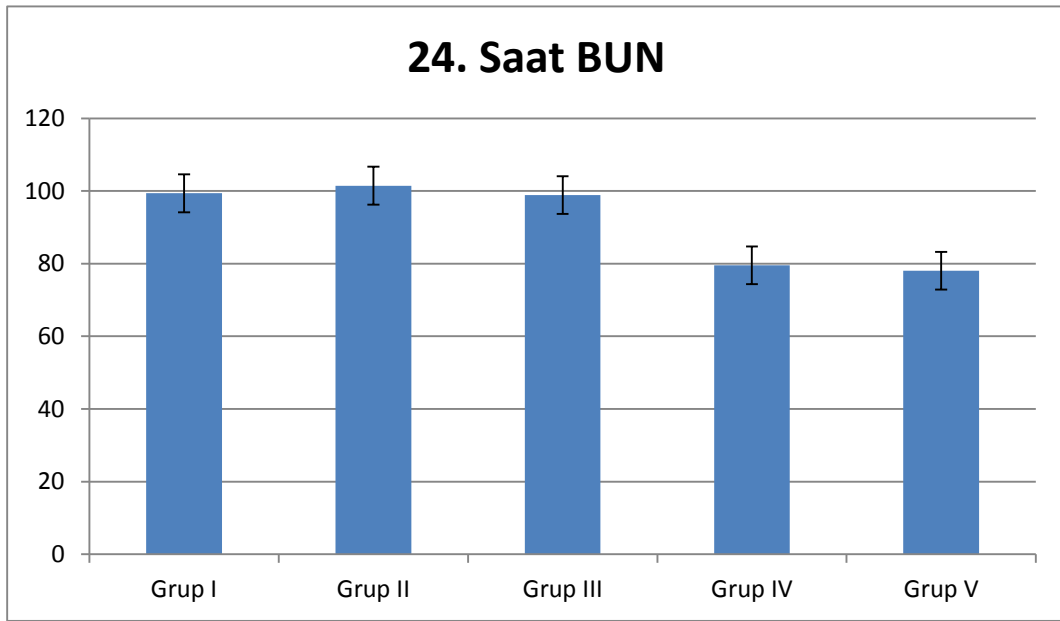
Anlamlı farklılıkların hangi gruplar için söz konusu olduğu tespit edildi. İstatistiksel analizler bilgisayar ortamında Sigma Stat yazılım programıyla yapıldı. Grup değerleri ortalama +/- standart sapma (SD) olarak

gösterilirken, gruplar arası karşılaştırmada p değeri 0.05'in altında olan durumlar anlamlı farklılık olarak kabul edildi.

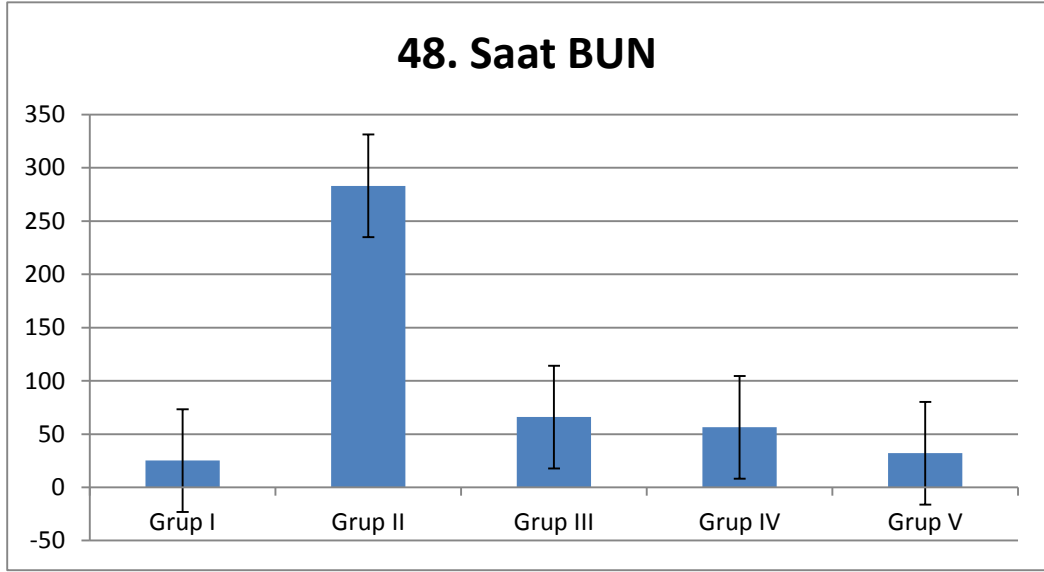
4.BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Değerlendirme

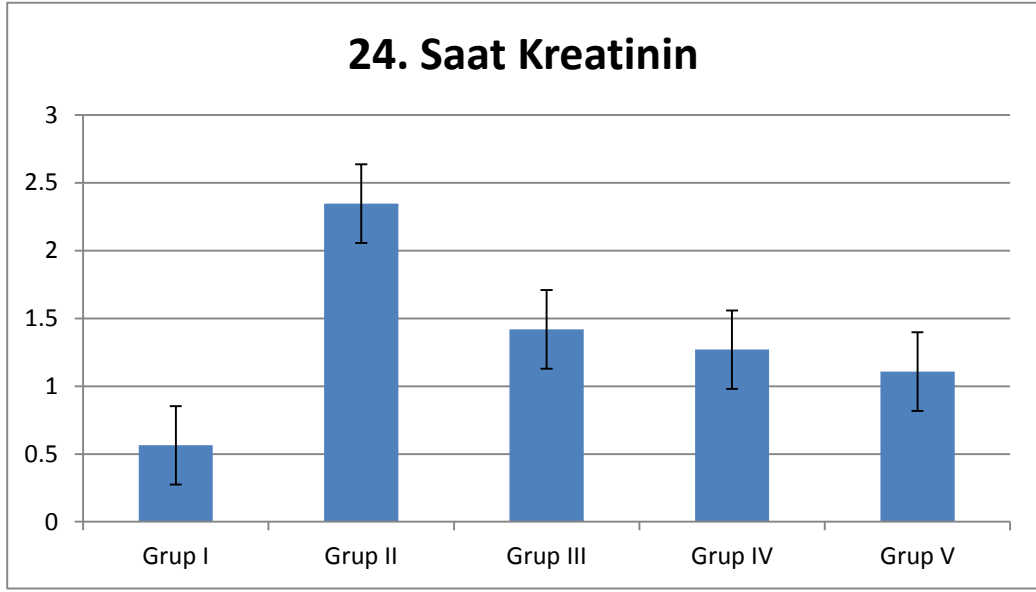
Gruplar 24. saatteki BUN değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında BUN değerlerinin artmış olduğu saptandı. Grup I e göre grup II,III de BUN değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu artış; grup I & grup II (P = 0,075), grupII &grup III(P = 0,975), grup II & grup IV(p=0,045), grup III & grup IV (P = 0,048), grup I & grup V(p=0,015) ve grup II & grup V(p=0,041) olarak saptandı.



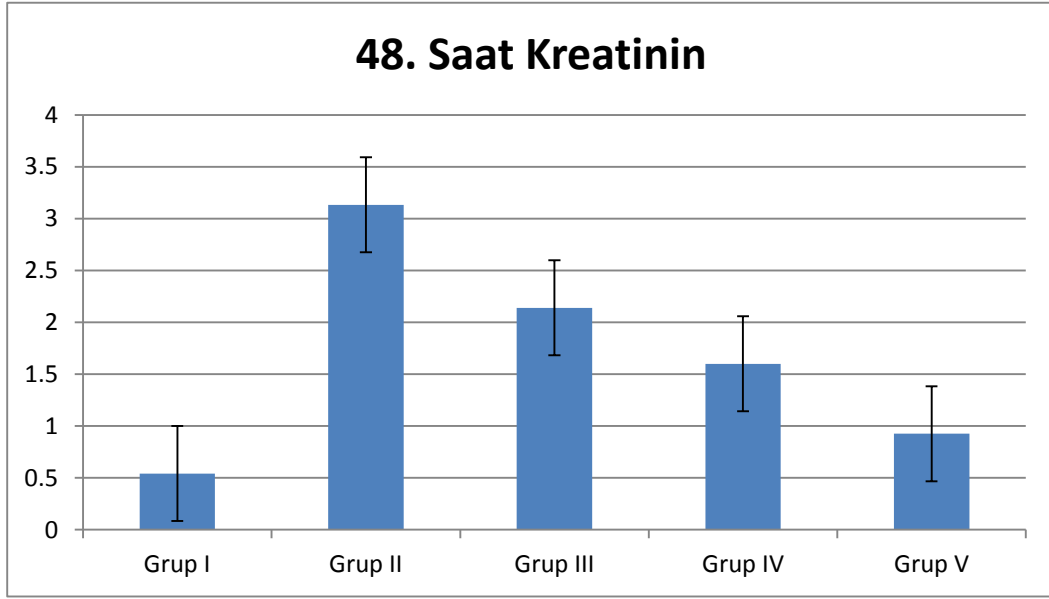
Gruplar 48. saatteki BUN değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında BUN değerlerinin artmış olduğu saptandı. Grup I e göre grup II,II de BUN değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu artış; grup I & grup II(P = 0,075), grupII &grup III(P = 0,975), grup II & grup IV(p=0,045), grup III & grup IV (P = 0,148), grup I & grup V(p=0,347) ve grup II & grup V(p=0,040) olarak saptandı.



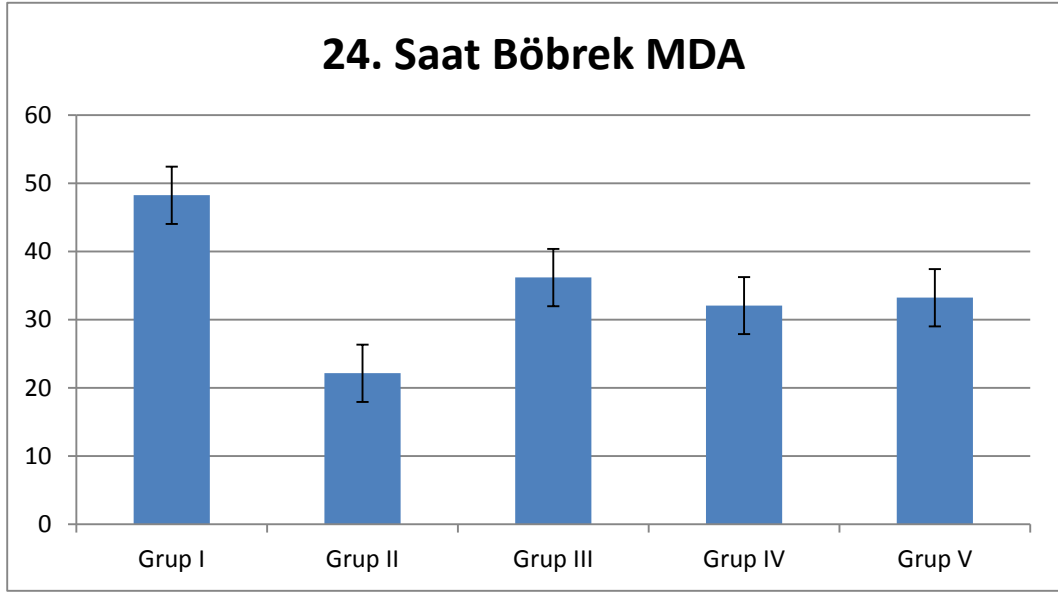
Gruplar 24. Saatteki kreatinin değeri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında kreatinin değerlerinin yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II,III,IV de kreatinin değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu artış; grup I & grup II($p=0,000$), grupII & grup III($p=0,010$), grup II & grup IV($p=0,003$), grup III & grup IV ($p=0,672$), grup I & grup V($p=0,125$) ve grup II & grup V($p=0,001$) olarak saptandı.



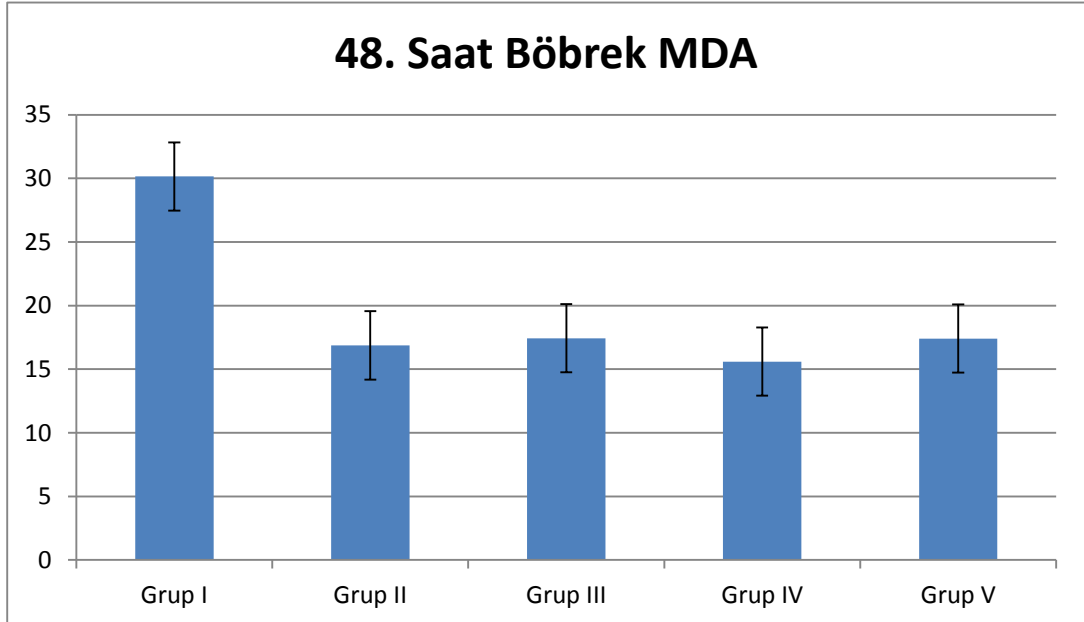
Gruplar 48. Saatteki kreatinin değeri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında kreatinin değerlerinin yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II,III,IV de kreatinin değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu artış; grup I & grup II($p=0,000$), grupII & grup III($p=0,006$), grup II & grup IV($p=0,000$), grup III & grup IV ($p=0,128$), grup I & grup V($p=0,277$) ve grup II & grup V($p=0,000$) olarak saptandı.



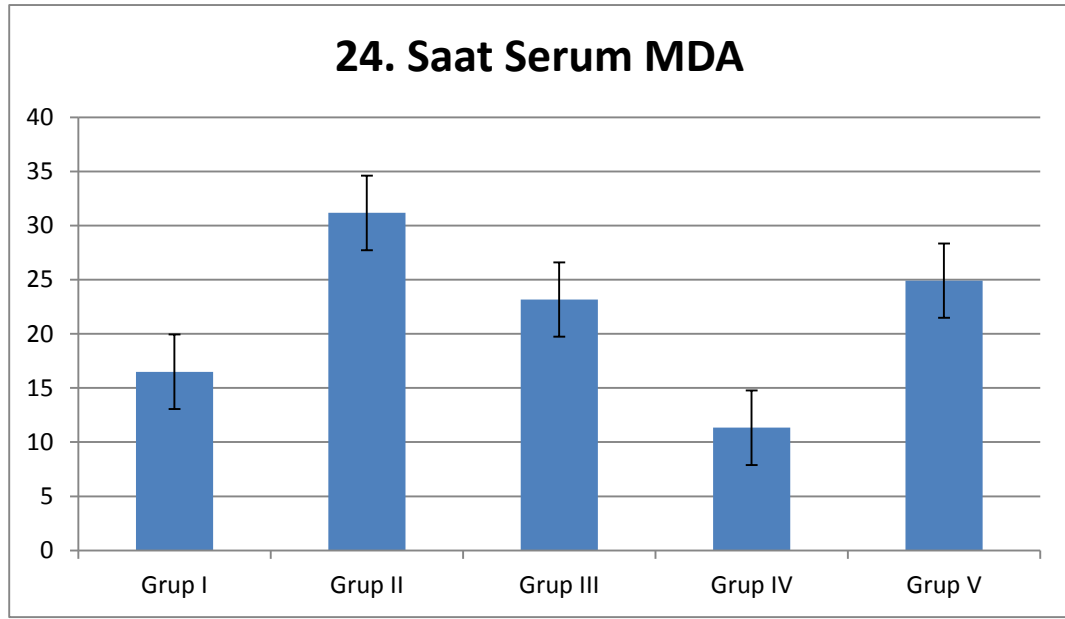
Gruplar 24. saatteki böbrek doku MDA değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında MDA değerlerinin düştüğü saptandı. Grup I e göre grup II,III,IV de MDA değerlerinin düştüğü görüldü. Bu düşüş; grup I & grup II($p=0,000$), grupII &grup III($p=0,000$), grup II & grup IV($p=0,001$), grup III & grup IV ($p=0,157$), grup I & grup V($p=0,000$) ve grup II & grup V($p=0,000$) olarak saptandı.



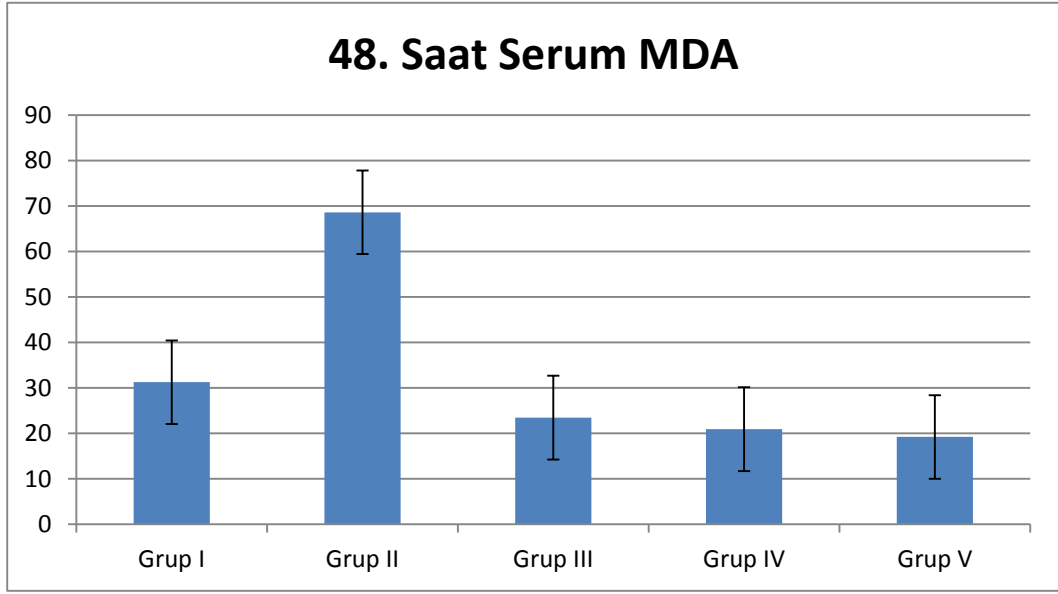
Gruplar 48. saatteki böbrek doku MDA değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında MDA değerlerinin düştüğü saptandı. Grup I e göre grup II,III,IV de MDA değerlerinin düştüğü görüldü. Bu düşüş; grup I & grup II($p=0,000$), grupII &grup III($p=0,846$), grup II & grup IV($p=0,659$), grup III & grup IV ($p=0,525$), grup I & grup V($p=0,000$) ve grup II & grup V($p=0,000$) olarak saptandı.



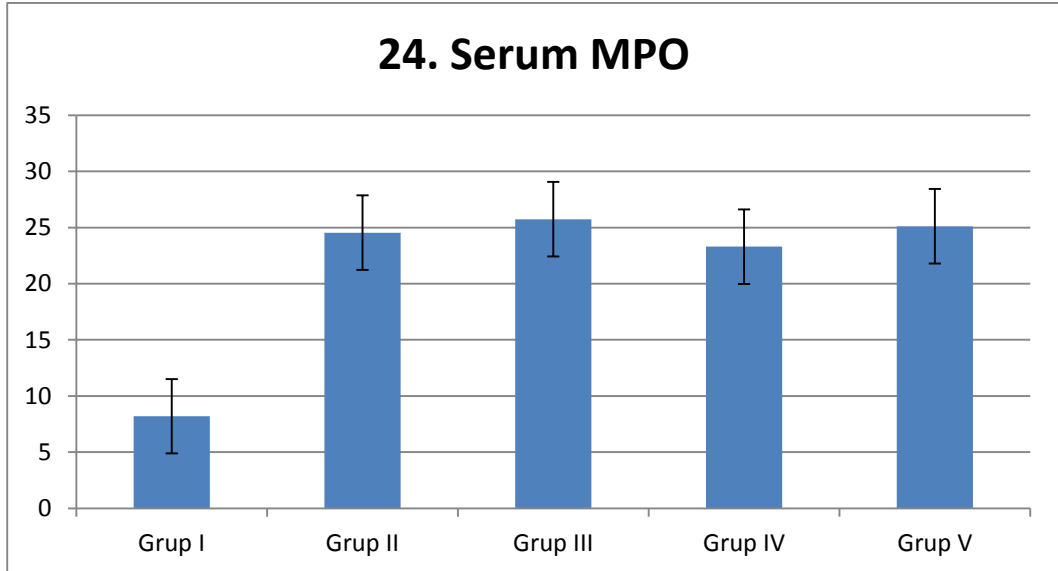
Gruplar 24. saatteki serum MDA değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında MDA değerlerinin, grup 4 hariç, yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II,III de MDA değerlerinin yükseldiği, grup IV de ise düştüğü görüldü. Bu sonuçlar; grup I & grup II($p=0,022$), grupII & grup III($p=0,204$), grup II & grup IV($p=0,002$), grup III & grup IV ($p=0,063$), grup I & grup V($p=0,212$) ve grup II & grup V($p=0,352$) olarak saptandı.



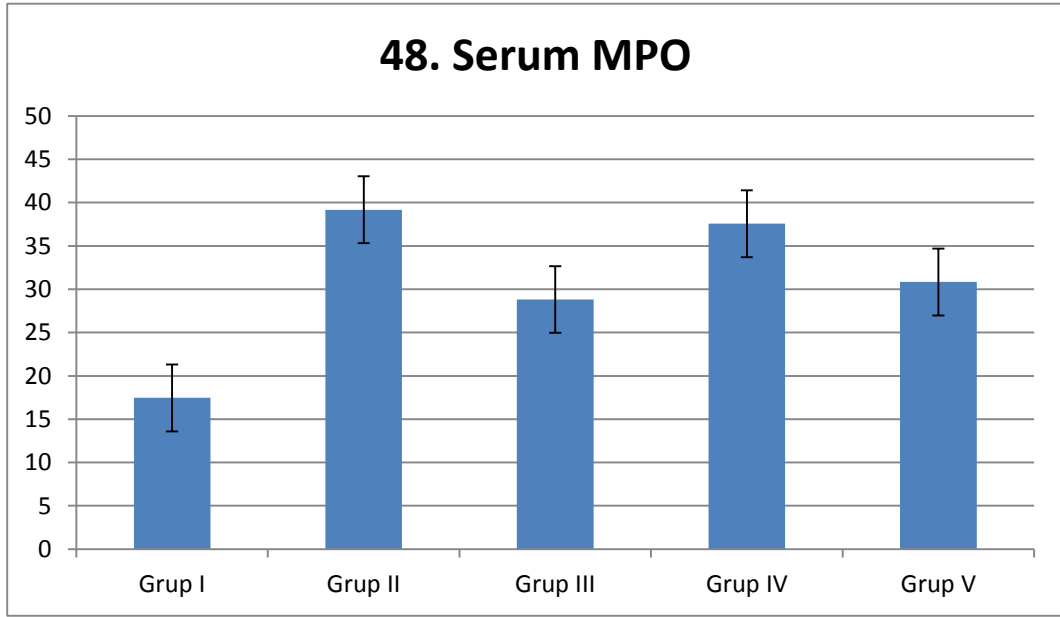
Gruplar 48. saatteki serum MDA değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında MDA değerlerinin, grup II hariç, düştüğü saptandı. Grup I e göre grup III ve IV de MDA değerlerinin düştüğü, grup II de ise yükseldiği görüldü. Bu sonuçlar; grup I & grup II($p=0,000$), grupII & grup III($p=0,000$), grup II & grup IV($p=0,000$), grup III & grup IV ($p=0,685$), grup I & grup V($p=0,058$) ve grup II & grup V($p=0,000$) olarak saptandı.



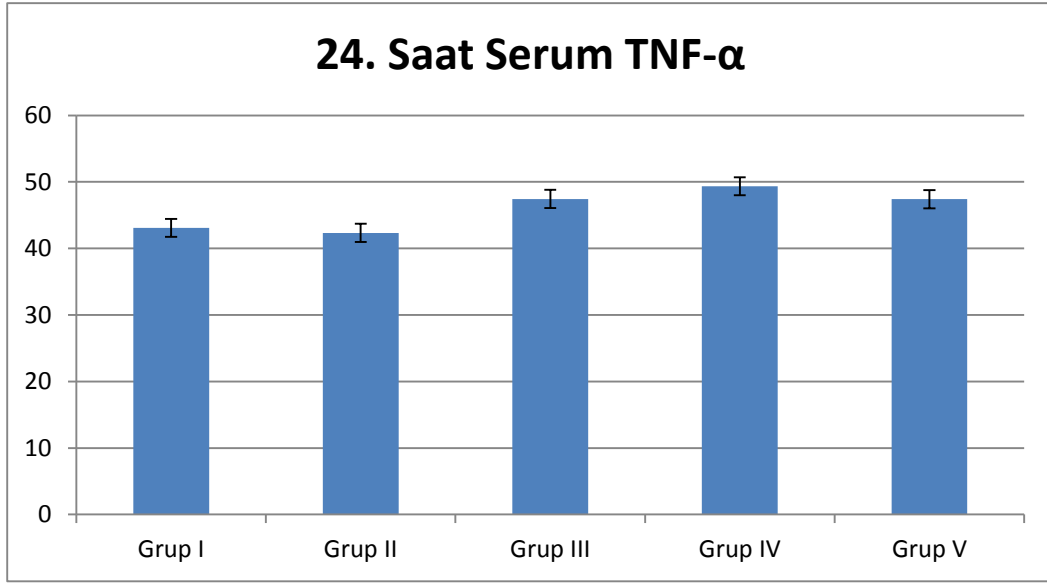
Gruplar 24. saatteki serum MPO değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında MPO değerlerinin yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II,III,IV de MPO değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu yükseklik; grup I & grup II($p=0,006$), grupII &grup III($p=0,871$), grup II & grup IV($p=0,867$), grup III & grup IV ($p=0,742$), grup I & grup V($p=0,025$) ve grup II & grup V($p=0,938$) olarak saptandı.



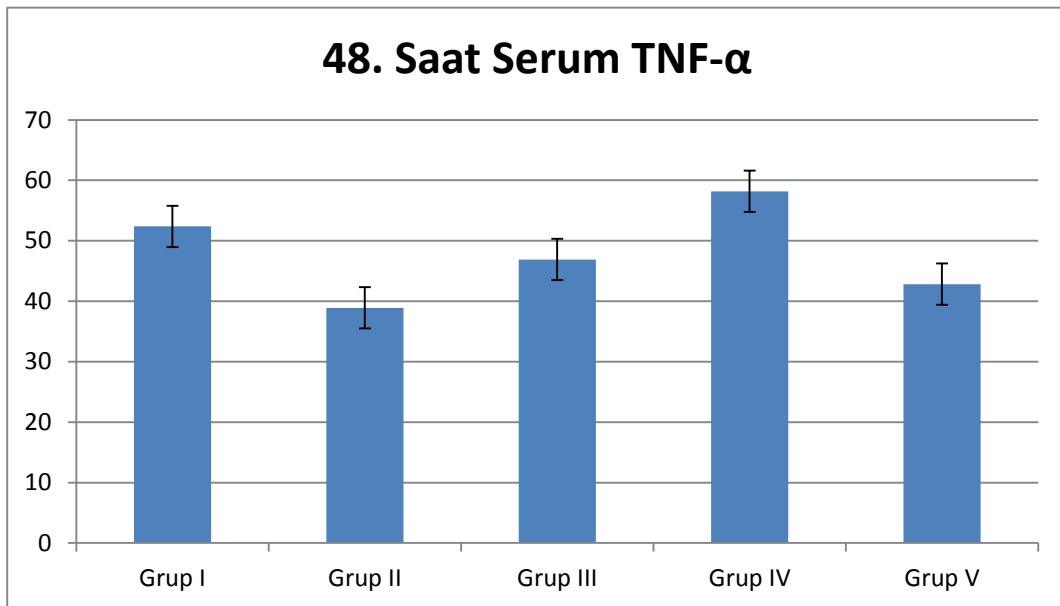
Gruplar 48. saatteki serum MPO değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında MPO değerlerinin yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II,II,IV de MPO değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu yükseklik; grup I & grup II(p=0,004), grupII &grup III(p=0,164), grup II & grup IV(p=0,828), grup III & grup IV (p=0,239), grup I & grup V(p=0,074) ve grup II & grup V(p=0,262) olarak saptandı.



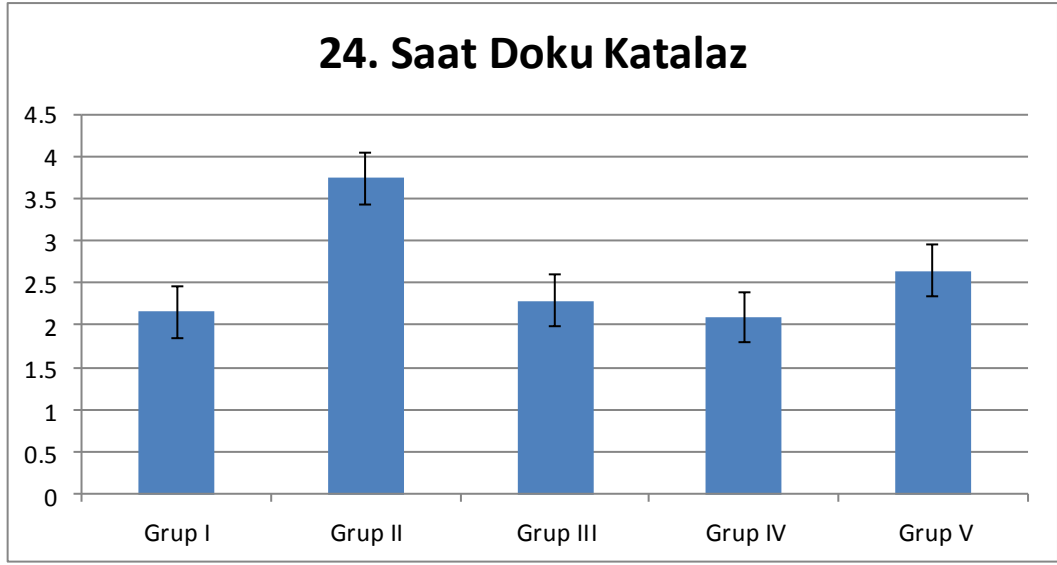
Gruplar 24. saatteki serum TNF- α değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında TNF- α değerlerinin yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II,III,IV de TNF- α değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu yükseklik; grup I & grup II(p=0,897), grupII &grup III(p=0,378), grup II & grup IV(p=0,228), grup III & grup IV (p=0,742), grup I & grup V(p=0,455) ve grup II & grup V(p=0,381) olarak saptandı.



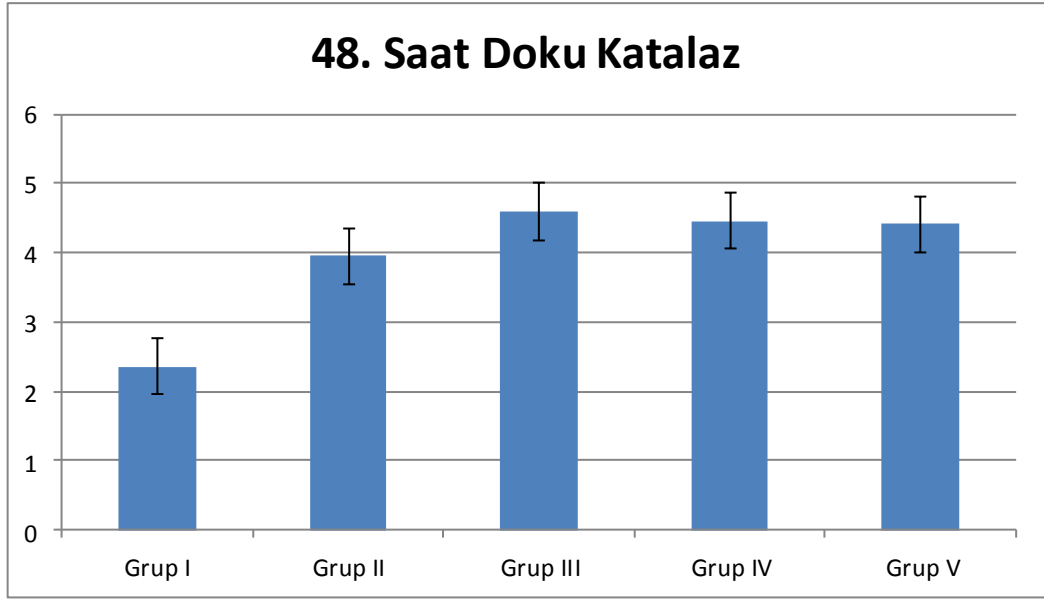
Gruplar 48. saatteki serum TNF- α değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında TNF- α değerlerinin grup II ve III de azalırken, grup IV de yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II,III de değerler düşerken grup IV de TNF- α değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu sonuçlar; grup I & grup II($p=0,022$), grupII &grup III($p=0,169$), grup II & grup IV($p=0,001$), grup III & grup IV ($p=0,054$), grup I & grup V($p=0,101$) ve grup II & grup V($p=0,497$) olarak saptandı.



Gruplar 24. saatteki böbrek katalaz değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II ve III arasında katalaz değerlerinin yükseldiği, grup IV de ise düşüş saptandı. Grup I e göre grup II ve III de katalaz değerlerinin yükseldiği, grup IV de ise düştüğü görüldü. Bu sonuçlar; grup I & grup II($p=0,080$), grupII &grup III($p=0,107$), grup II & grup IV($p=0,069$), grup III & grup IV ($p=0,828$), grup I & grup V($p=0,591$) ve grup II & grup V($p=0,220$) olarak saptandı.



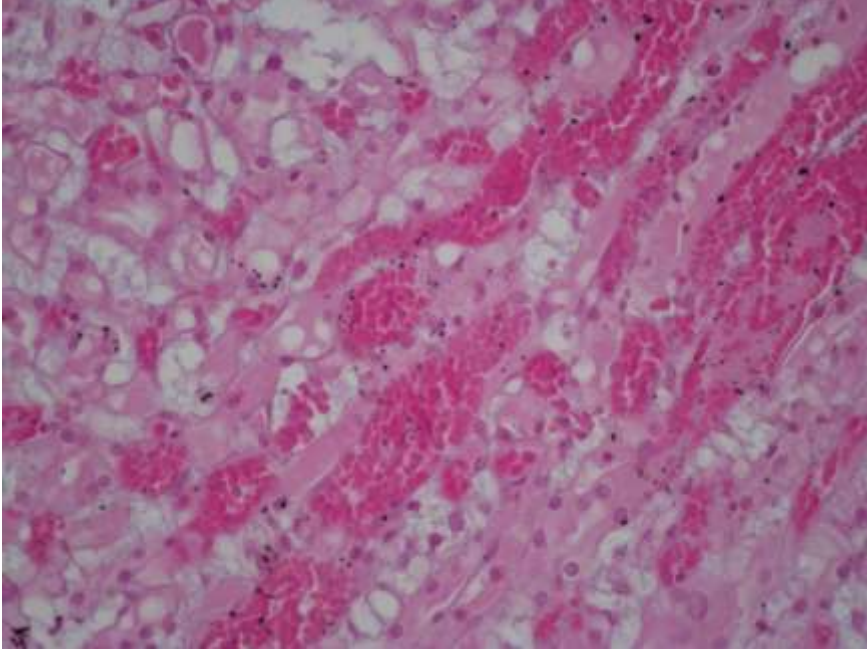
Gruplar 48. saatteki böbrek katalaz değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II ,III ve IV arasında katalaz değerlerinin yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II, III ve IV de katalaz değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu sonuçlar; grup I & grup II($p=0,079$), grupII &grup III($p=0,468$), grup II & grup IV($p=0,566$), grup III & grup IV ($p=0,879$), grup I & grup V($p=0,025$) ve grup II & grup V($p=0,607$) olarak saptandı.



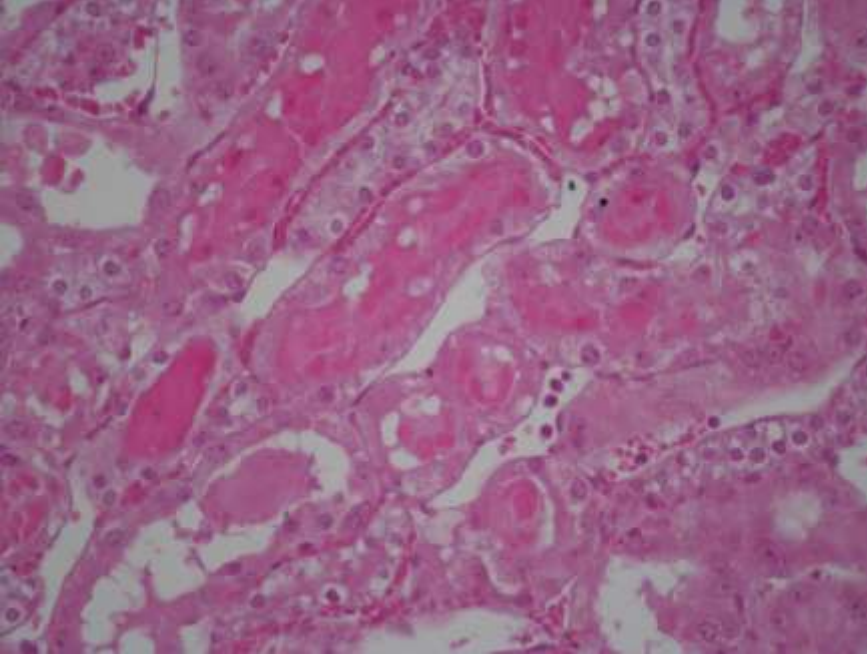
4.2. Histopatolojik Değerlendirme

Aynı bireylerden iki değişik zamanda elde edilen bağımlı iki yüzde arasında fark olup olmadığının araştırılması üzerine SPSS programında **Marjinal Homojenlik Testi (Stuart-Maxwell Testi)** uygulanmıştır.

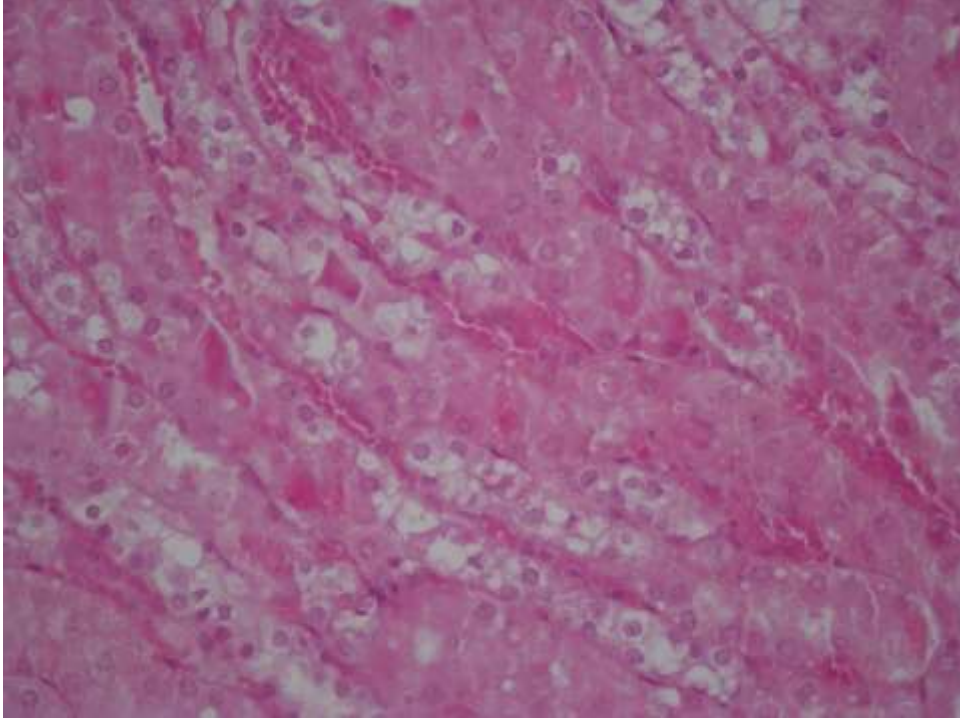
Gruplar arasında yapılan karşılaştırılmada incelenen parametrelerin grup II e kıyasla diğer bütün gruplarda istatistiki olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0,005$). 24. Saat; konjesyon ($p=0,024$), vakuolizasyon ($p=0,635$), nekroz ($p=0,434$), silendir ($0,024$). 48. Saat konjesyon ($p=0,642$), vakuolizasyon ($p=0,364$), nekroz ($p=0,023$), silendir ($0,012$). Her ne kadar uzak ve lokal iskemik sonkoşullanma uygulanmasıyla, kontrol ve iskemik sonkoşullanma grupları arasında 24. Saat vakualizasyon ve nekroz yönünden fark oluşmuyorsa da ($p=0,0,635$, $p=0,434$), sham grubuyla iskemik koşullanma grupları arasında da anlamlı farkın bulunmaması iskemik sonkoşullanma gruplarının histopatolojik düzeyde iskemi kadar zarar vermediği anlamında yorumlanabilir. Bu sonuçlara göre, bireylerin Konjesyon, Silendir, Vakuolizasyon ve Nekroz açısından 24.saat ve 48.saat değerleri arasında istatistiksel açıdan farklılık saptanmadı (Standard MH Statistic=-0,00, $p=1,00$).



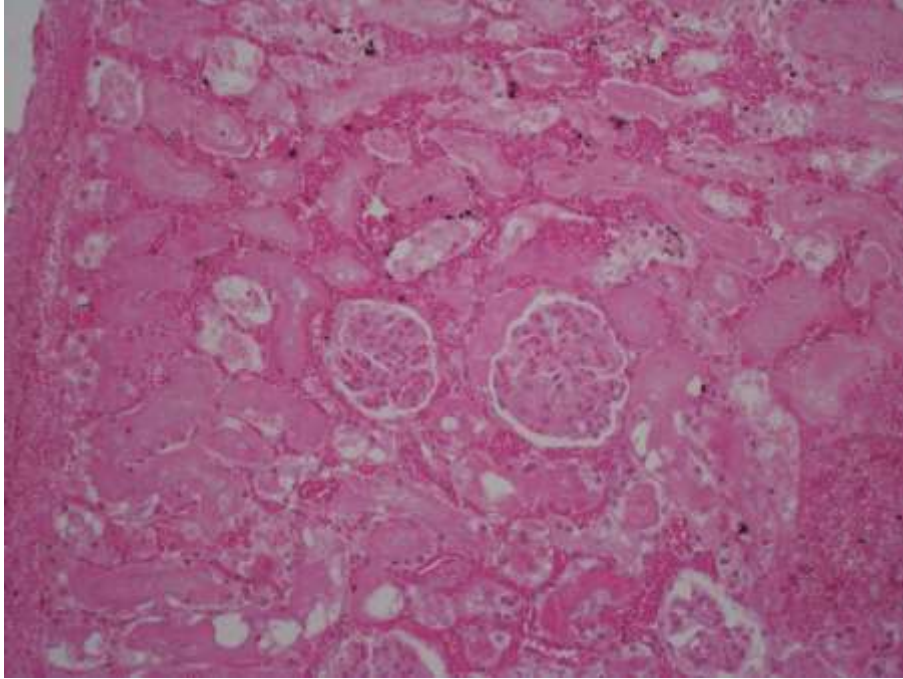
Resim 4.1: Tübül yapıları arasında, lümenleri eritrositler ile dolu, konjesyone damar yapıları izlenmektedir (HE x 200) (48.saat 3.grup olgusu)



Resim 4.2: Tübül yapıları lümeninde bazıları amorf görünümde silindirik materyal birikimi gözlenmektedir (HE x 200) (24.saat 3.grup olgusu)



Resim 4.3: Tübül epitelinde sitoplamik vakuolizasyon ve berraklaşma mevcuttur (HE x 200) (48.saat 3. grup olgusu)

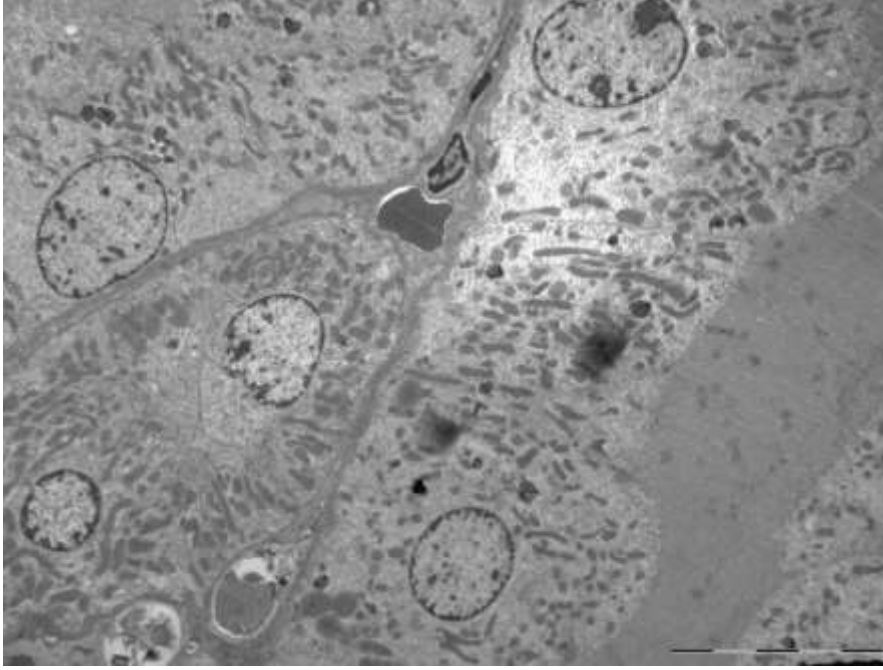


Resim 4.4: Resmin üst yarısında tübül epitel hücrelerinin sadece silüetleri izlenmekte, nükleusları seçilememektedir. Alt kısımda kısmen korunmuş tübül yapıları bulunmaktadır (HE x 200) (24.saat 4.grup olgusu)

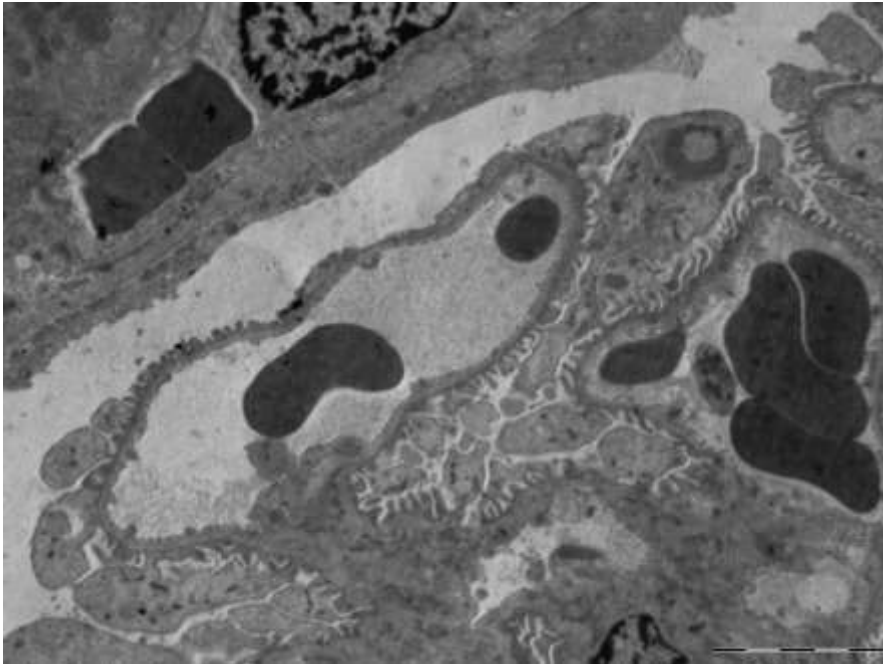
4.3. Elektronmikroskopi Sonuçları

Grupların 24. Saat böbrek dokularında yapılan elektron mikroskopik incelemesinde;

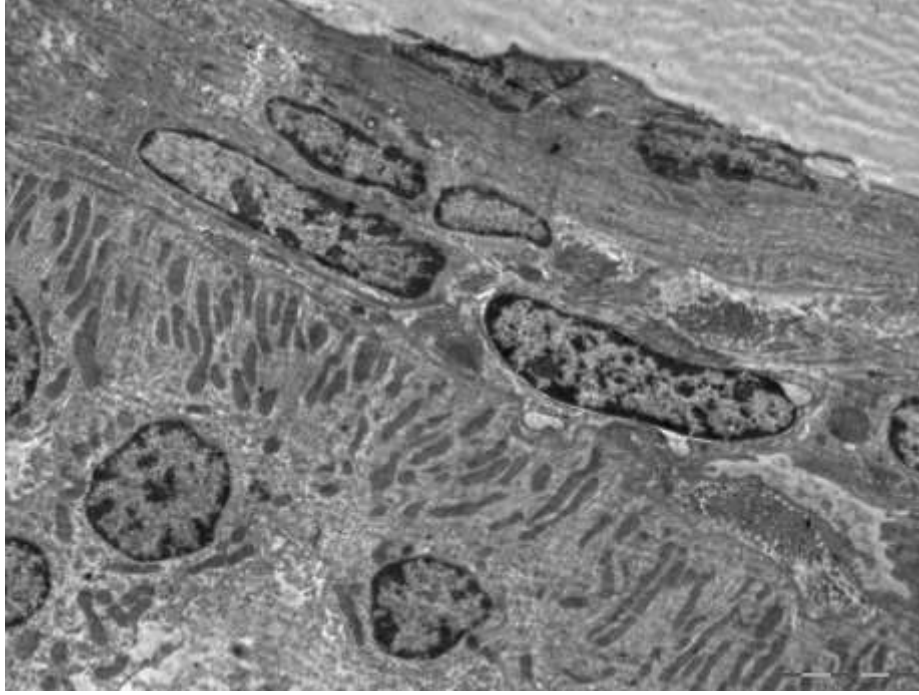
1.grup(sham grubu) 24.saat



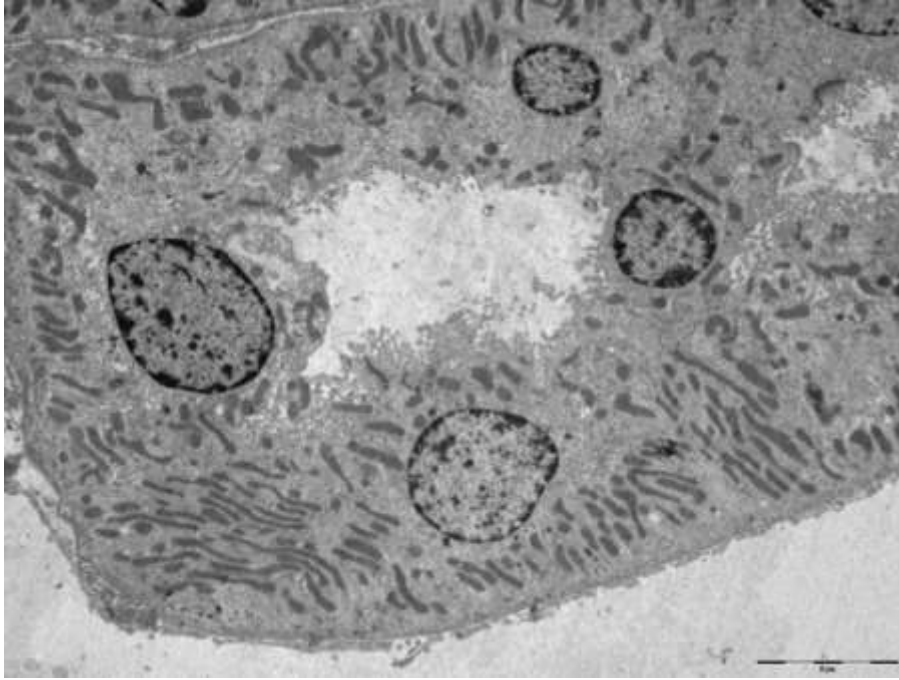
Resim 1a; Proksimal kıvrıntılı tübül hücreleri. Lateral hücre dijitalasyonları belirgin, çok sayıda mitokondri gözleniyor. Çekirdek düzgün ve ökromatik yapıda.



Resim 1b; Eritrositler ve Glomerular kapiller lümeni. Glomerular bazal membrana dayanmış podosit yapıları düzgün olarak gözlenmektedir.



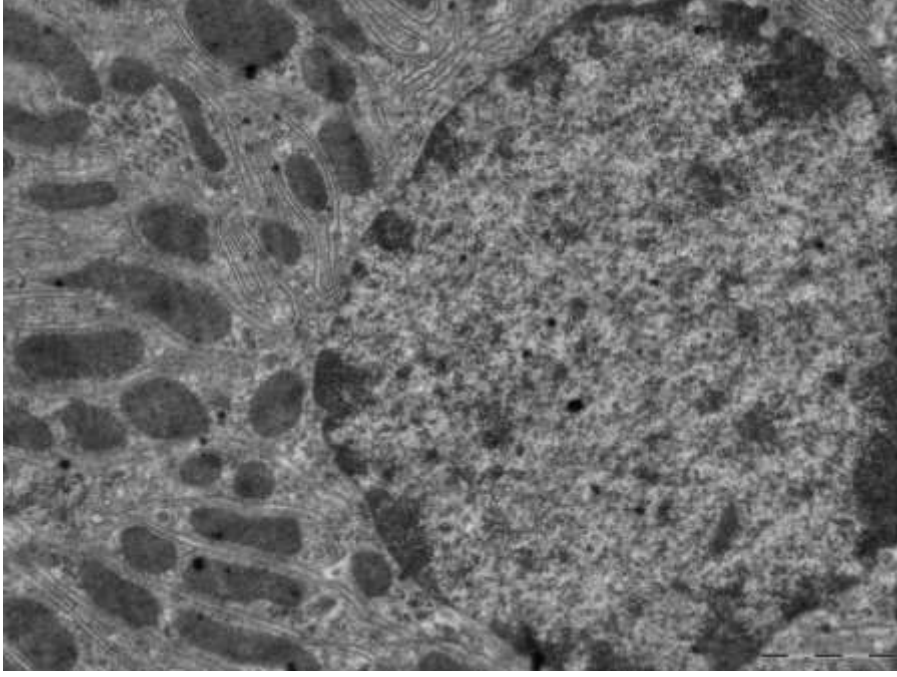
Resim 1c; Bazal yerleşimli mitokondriler bulunmakta. Bazolateral yüzün arka kısmında ekstraglomerular mezenşiyal hücreler yerleşmiş durumda. En üst kısımda ise pariyetal hücreler (bowman kapsülü) gözlenmektedir.



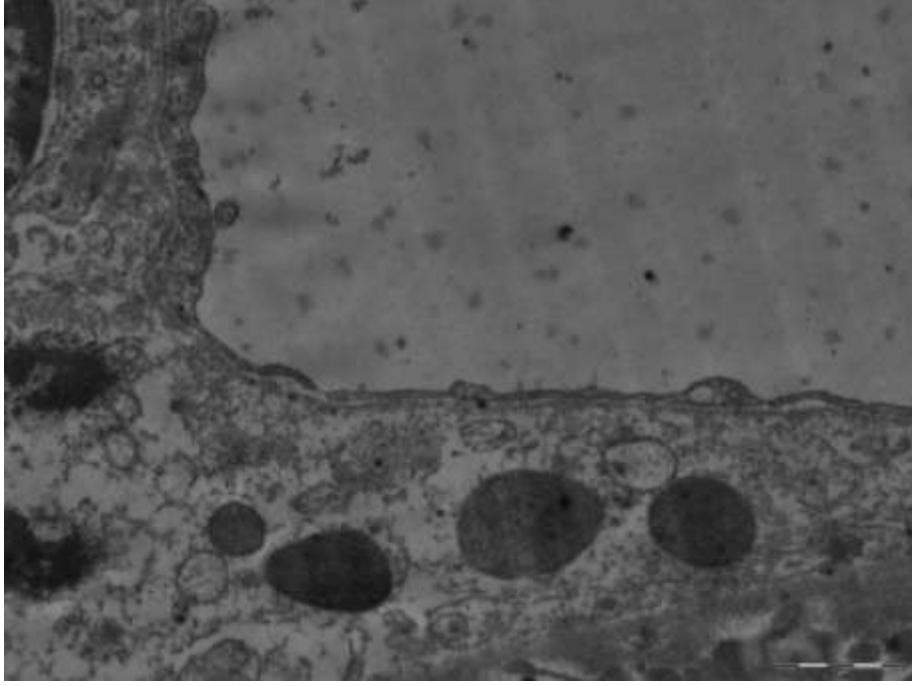
Resim 1d; Distal kıvrıntılı tübül. Mitokondiler çok miktarda, lüminal yüzeyde düzensiz yapıda mikrovilliler gözleniyor. Çekirdekler lüminal

yüzeye yakın biçimde, ökromatik ve kısmen lümen içine çıkını yapma eğiliminde. Hücrelerin lümenine bakan kısımlarındaki stoplazma bölgesi mitokondri bakımından zayıf ancak yer yer küçük veziküllerle dolu görünmekte.

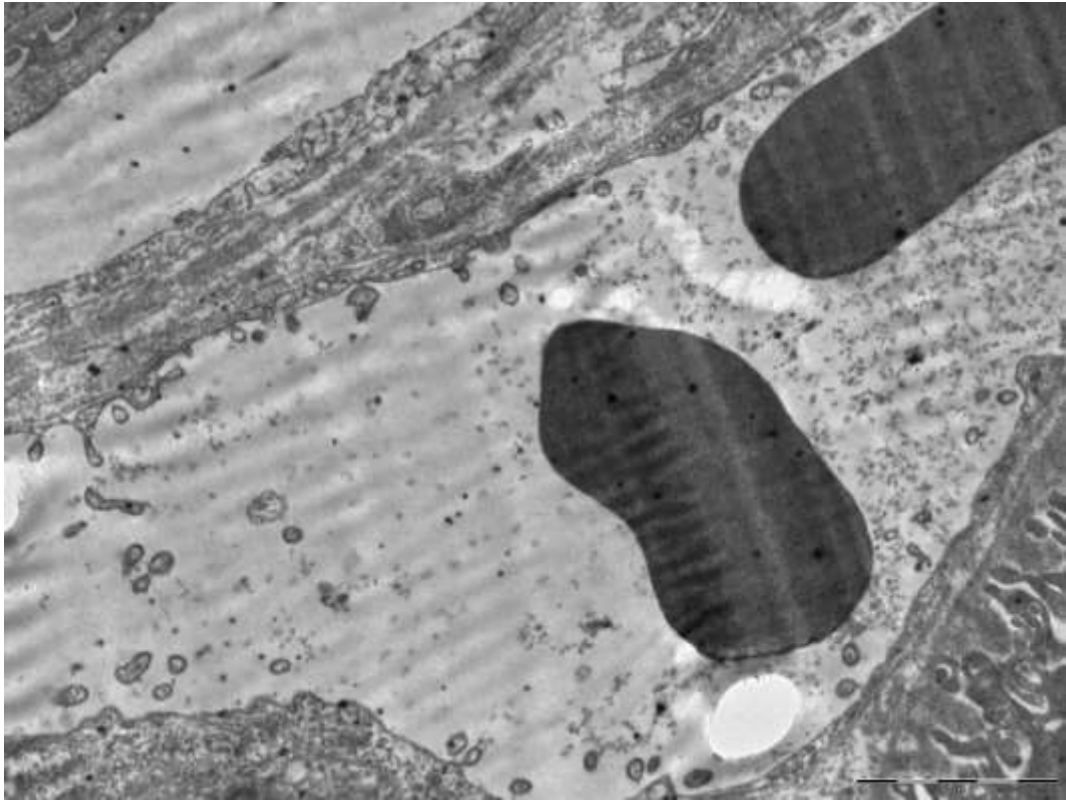
2.grup (Kontrol grubu) 24. saat



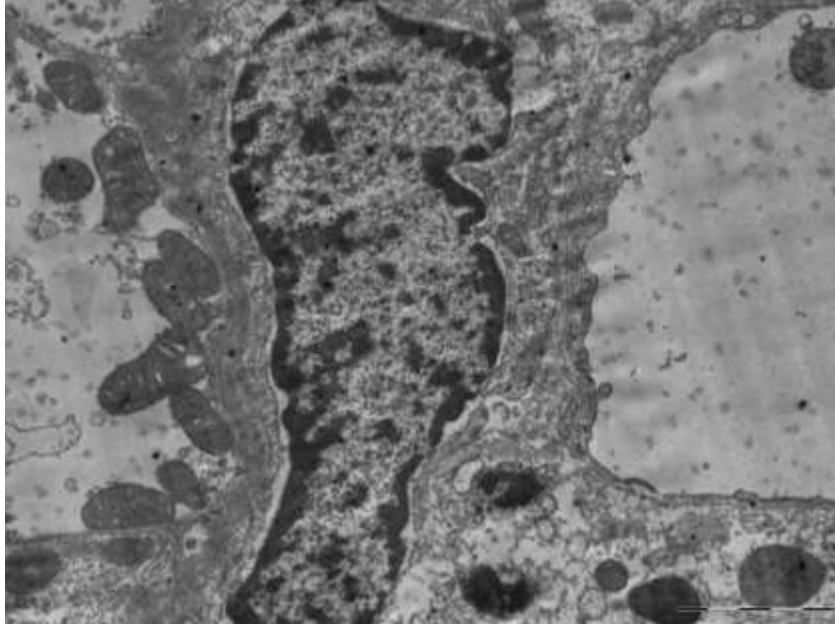
Resim 2a; Mitokondrilerde şişme ile beraber krista yapısının silindiği ve mitokondri çift yapısının gözlenemediği tespit edilmiştir. Çekirdek dış zarı net olarak gözlenememektedir. ER yapısında normal bulguların yanısıra yer yer şişmeler de gözlenmiştir.



Resim 2b; Ödem nedeniyle organel yapılarında yer yer silinmeler ve stoplazmada yer yer erimeler gözlenmekte, lizozom ve koful sayısındaki artış dikkat çekmektedir.

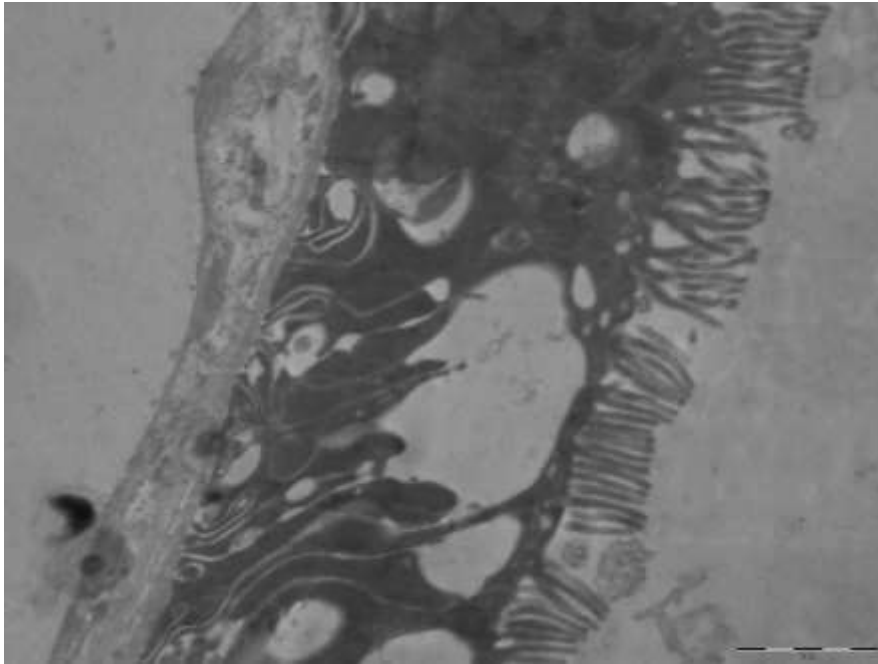


Resim 2c; Apikal yüzeyde blebbing tarzı yapılar gözlenmektedir.

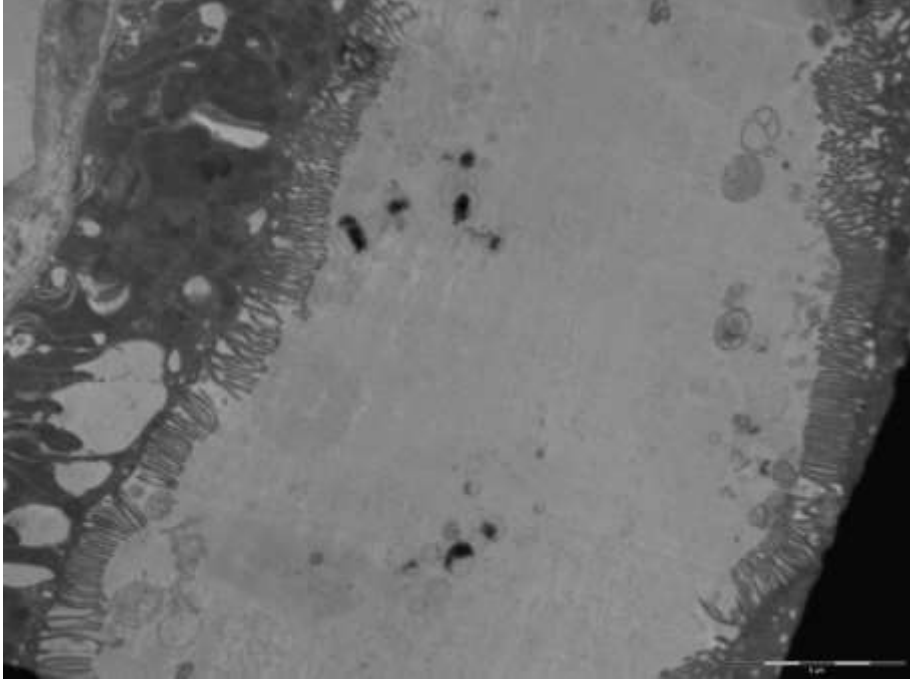


Resim 2d; Mitokondri yapılarında ileri derecede şişme ve krista yapılarında bozulma gözlenmektedir, ödem nedeniyle yer yer stoplazma erimeleri gözlenmektedir. Çekirdek dış zarında şişme barizdir.

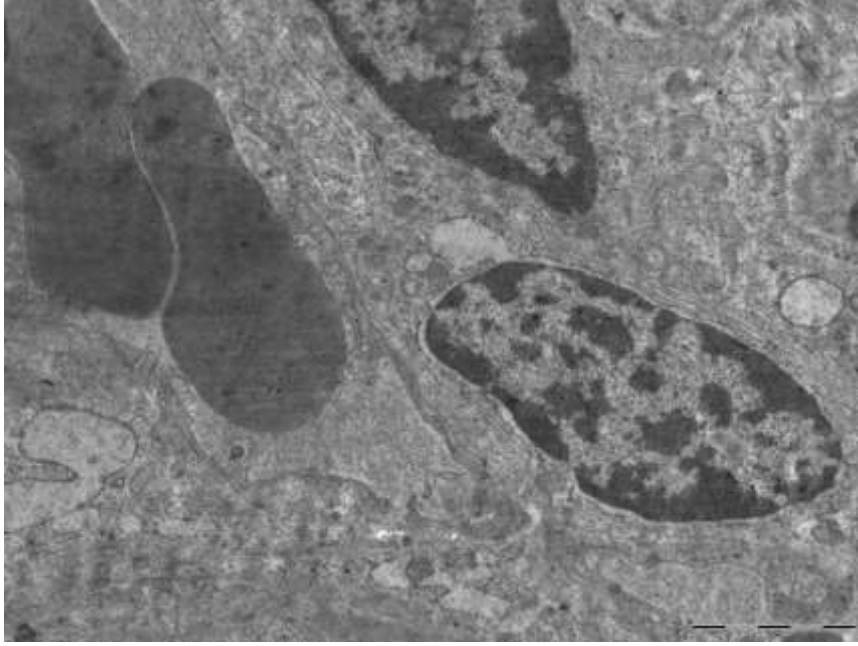
3. grup(böbrek iskemi –böbrek ardkoşullanma)24. saat



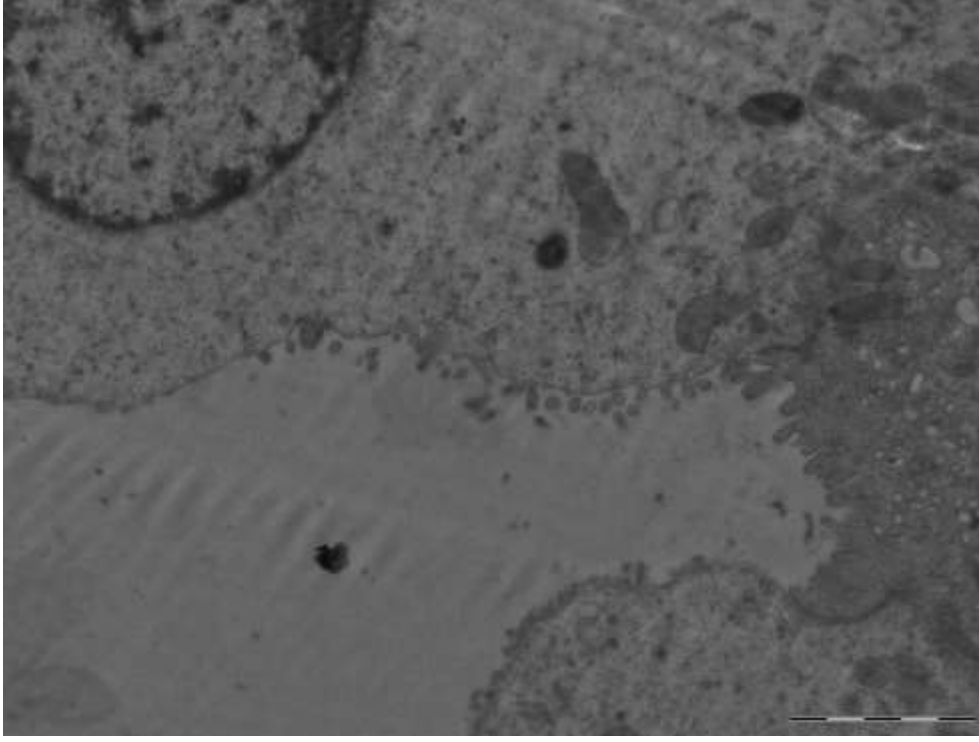
Resim 3a; Mikrovillus görünüşleri genel olarak düzgün ancak çok az yerde seyrek ve hafif düzensizlik izleniyor.



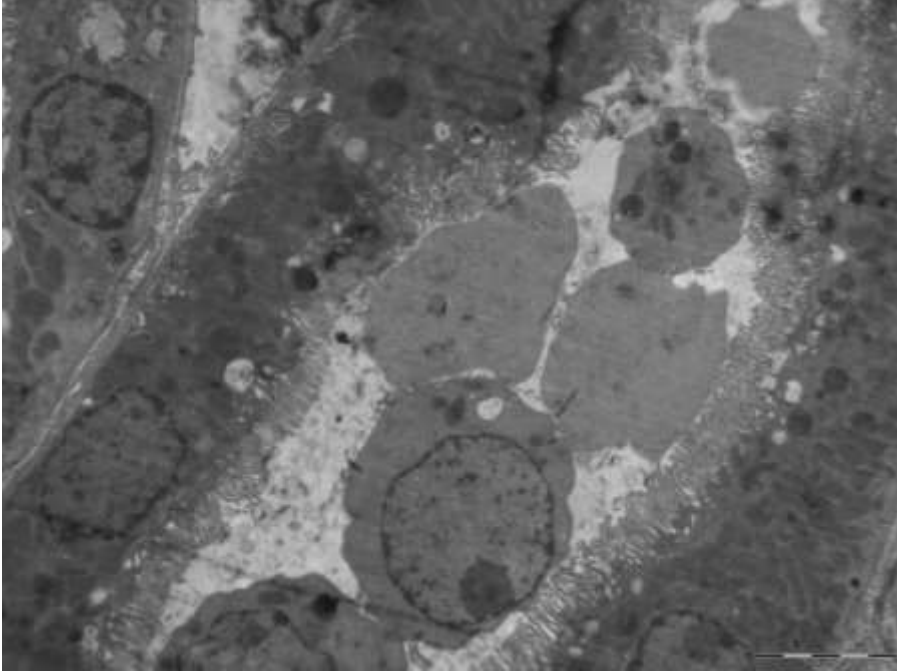
Resim 3b; Tübülün mikrovillus yapısı genel olarak düzgün. Bazı kısımlarda enine kesiti gelen mikrovillus yapılar da izleniyor.



Resim 3c; Çekirdek çift zarında şişmeler var. Hatta üst kısımda çekirdek dış zarının iyice şiştiği ve dışa doğru baloncuk tarzında bir yapı oluşturduğu gözleniyor. Organel yapısında silinmeler var, mitokondri ve ER ler net olarak ayırt edilemiyor. Koful benzeri yapılar izleniyor.

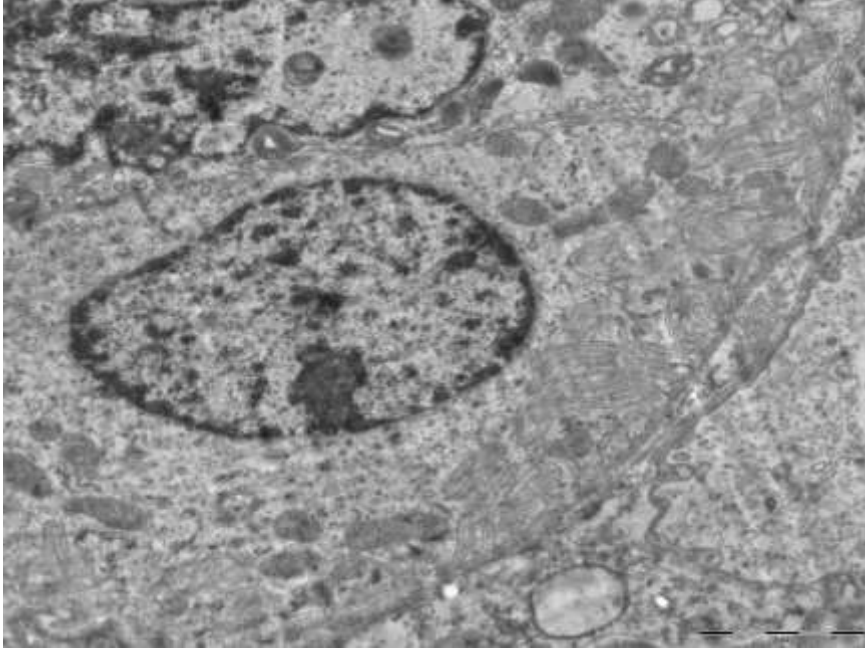


Resim 3d; Lümene bakan yüzeyde küçük veziküllere rastlanıyor, mitokondri az sayıda ve düzensiz dağılım gösteriyor.

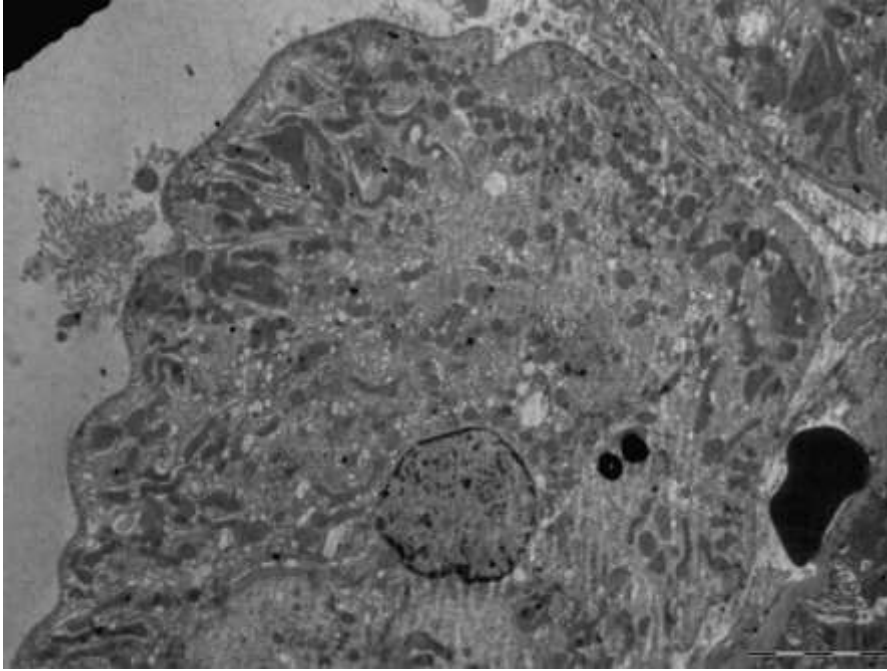


Resim 3e; Lümene düşen hücreler dikkat çekmektedir.

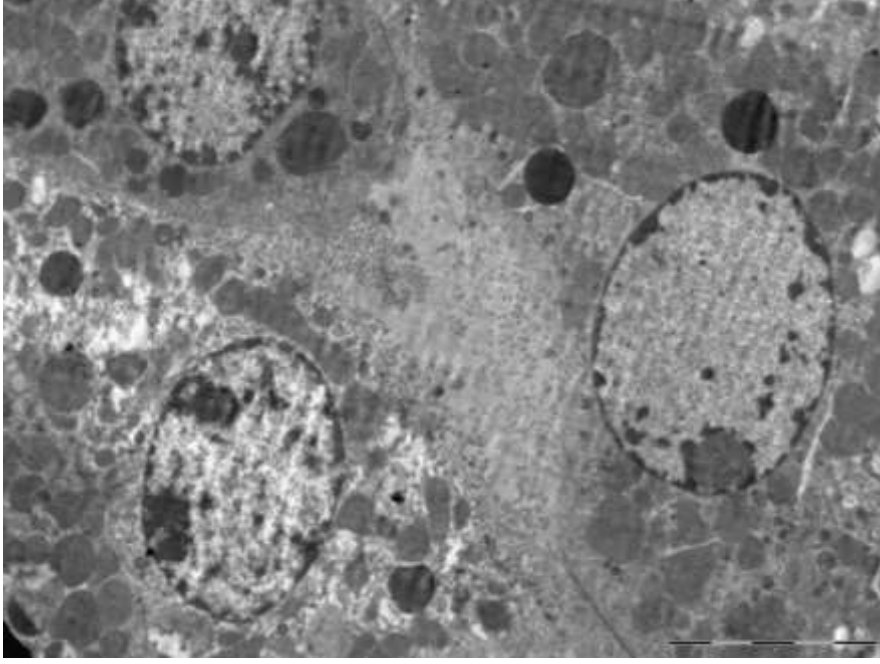
4. grup (böbrek iskemisi –karaciğer ard koşullanma) 24. saat



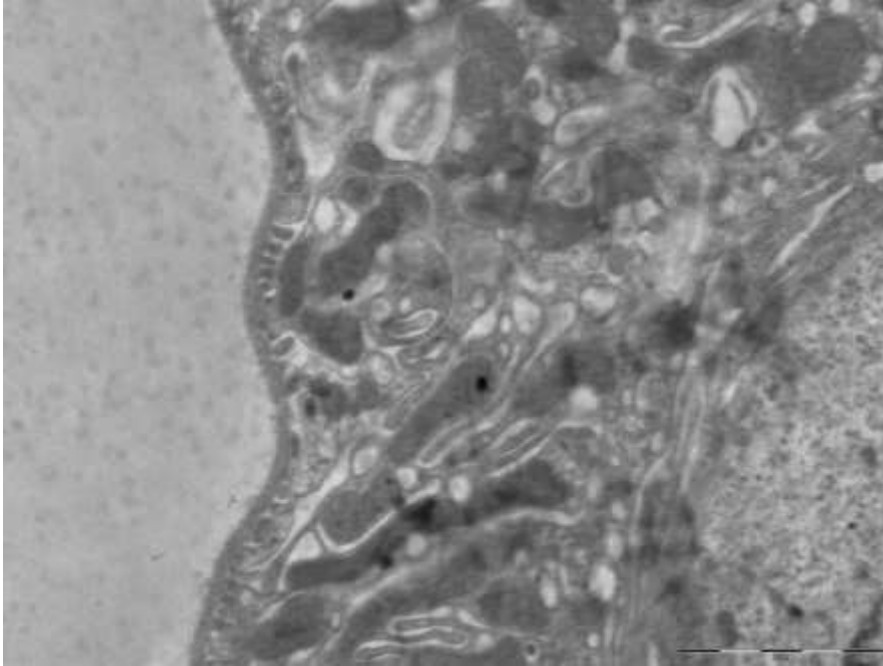
Resim 4a; Bazal kıvrımların düzensiz bir dağılım gösterdiği ve mitokondri sayısında önemli derecede azalma olduğu gözleniyor. Çekirdek zarı normal görünümündedir.



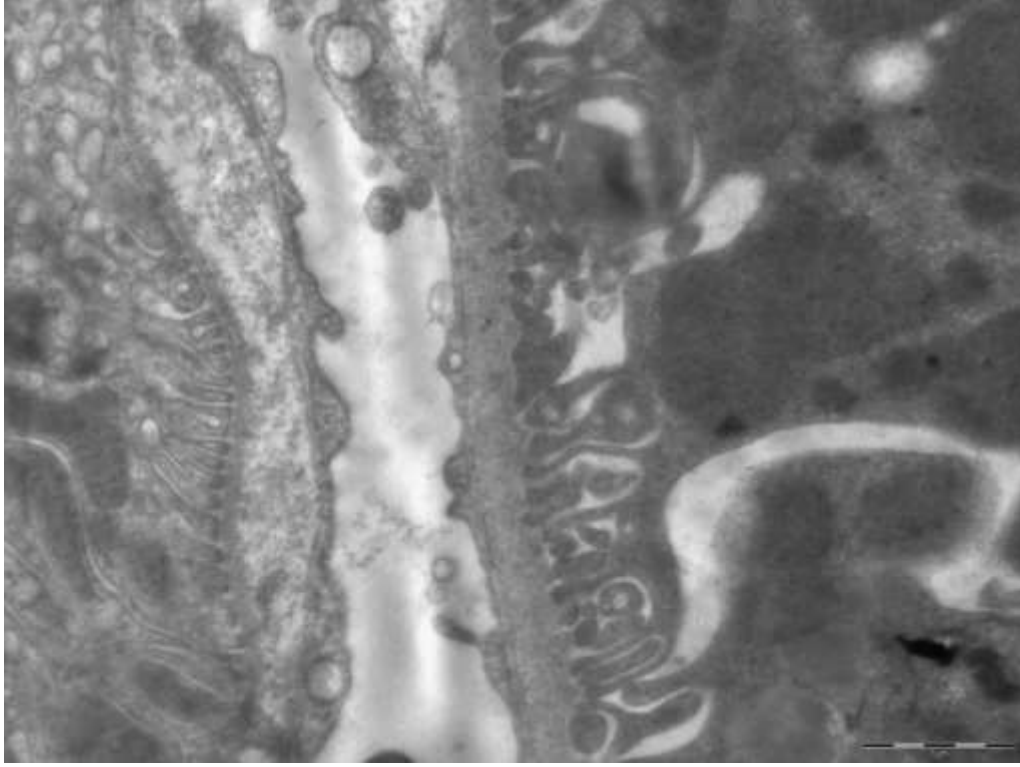
Resim 4b; Mitokondri sayısında artış olmakla beraber apikal kısımda çok daha fazla olduğu görülmektedir. Yer yer kofullar izlenmektedir ve çekirdek normal görünümündedir.



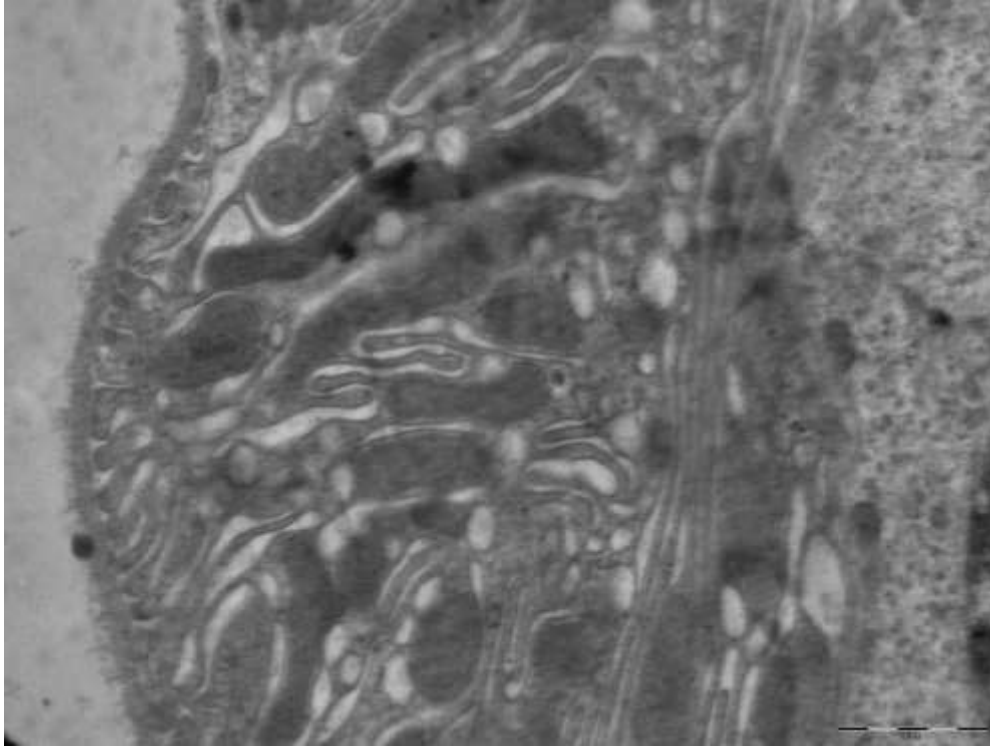
Resim 4c; Çekirdek normal görünümündedir. Çekirdekçiğin genelde merkezde değil zara doğru bir yerleşimde olduğu görülmektedir. Yer yer ödem olduğu gözlenmektedir. Bol miktarda lizozom gözlenmiştir.



Resim 4d; Bazal lamina ve podosit uzantıları normal görünümündedir. ER düzensiz yapılar olarak izleniyor.

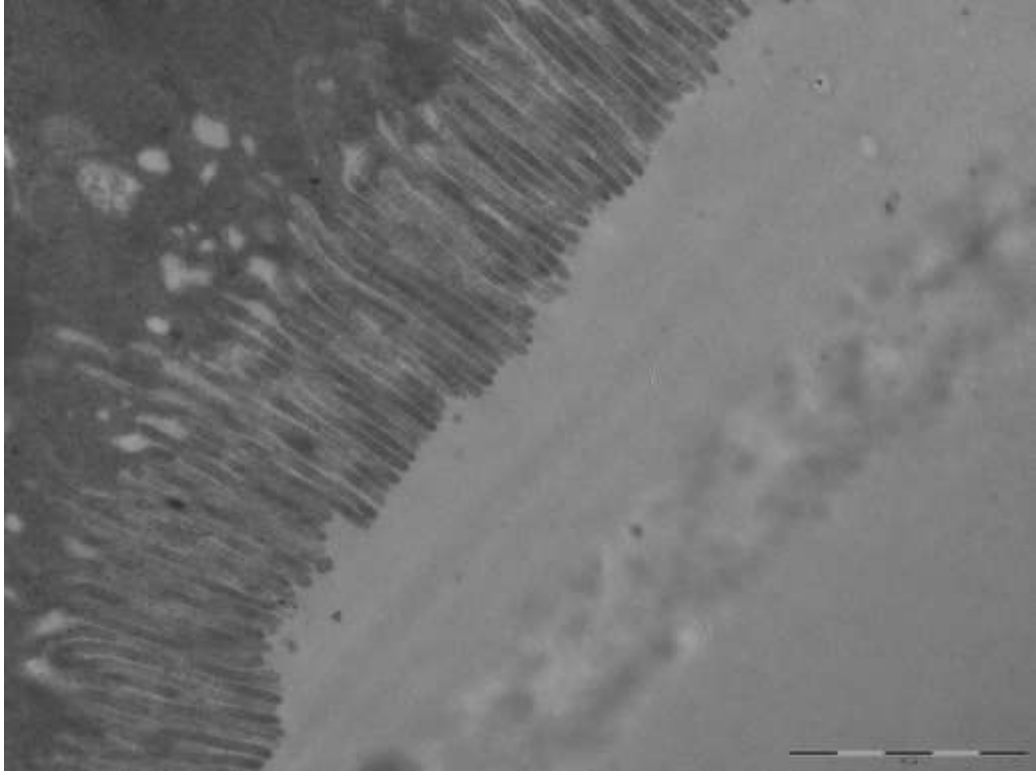


Resim 4e; Bazal katlantılar normal görünümündedir.

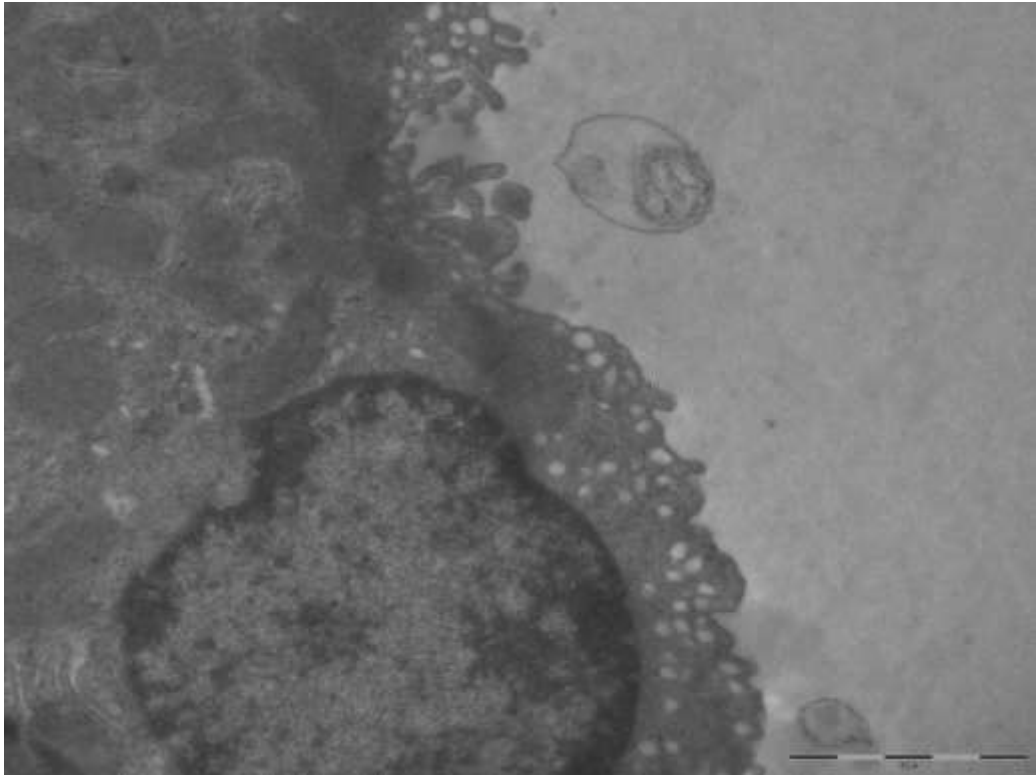


Resim 4f; Bazal katlantılar normal görünümündedir.

5.grup(pravastatin sonkoşullanma) 24. saat



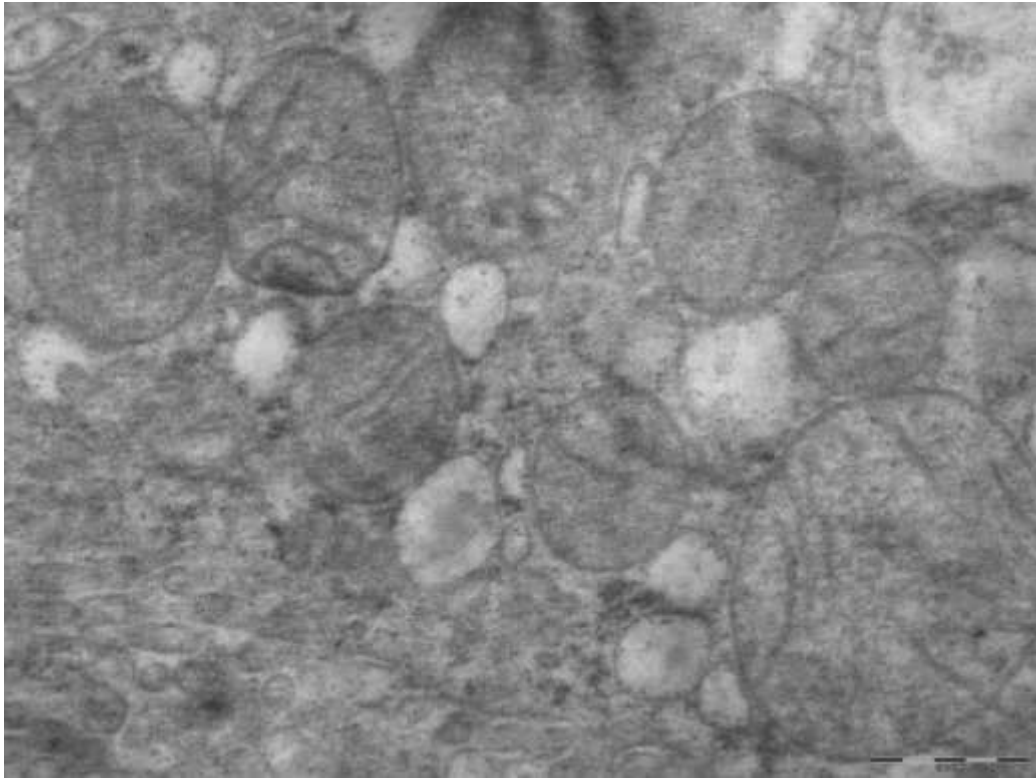
Resim 5a; Mikrovillus yapısı çok düzenli olarak izlenmektedir.



Resim 5b; Çekirdek normal görünümde ve bol miktarda mitokondri izlenmektedir. Lümeneye bakan kısımda küçük veziküller dikkat çekmektedir.



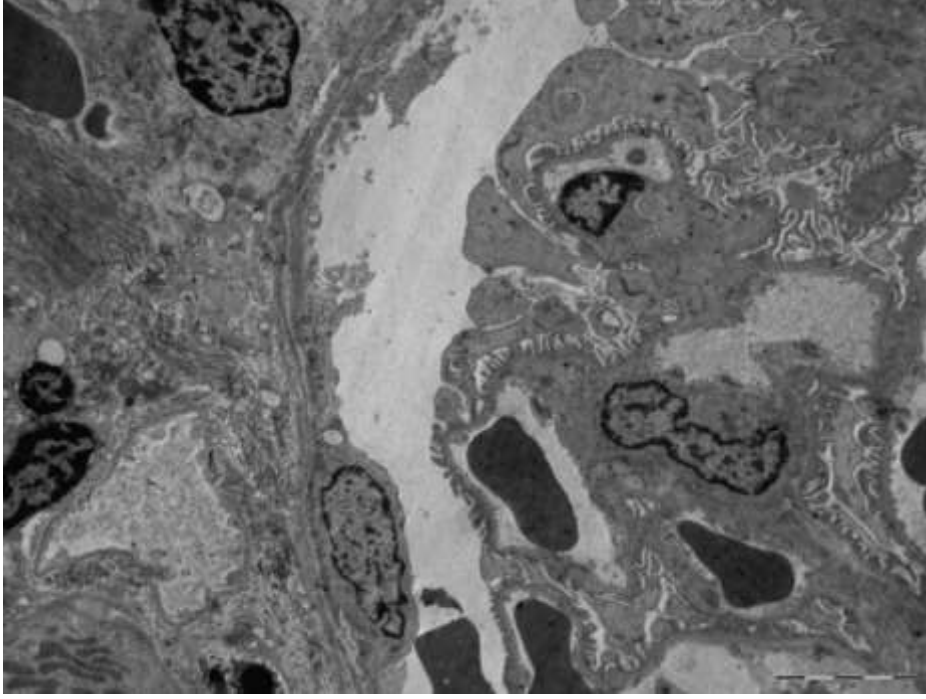
Resim 5c; Proksimal kıvrıntılı tübül hücrelerinin düzenli bir yapıda olduğu gözleniyor, çekirdek normal ve ökromatik görünümündedir.



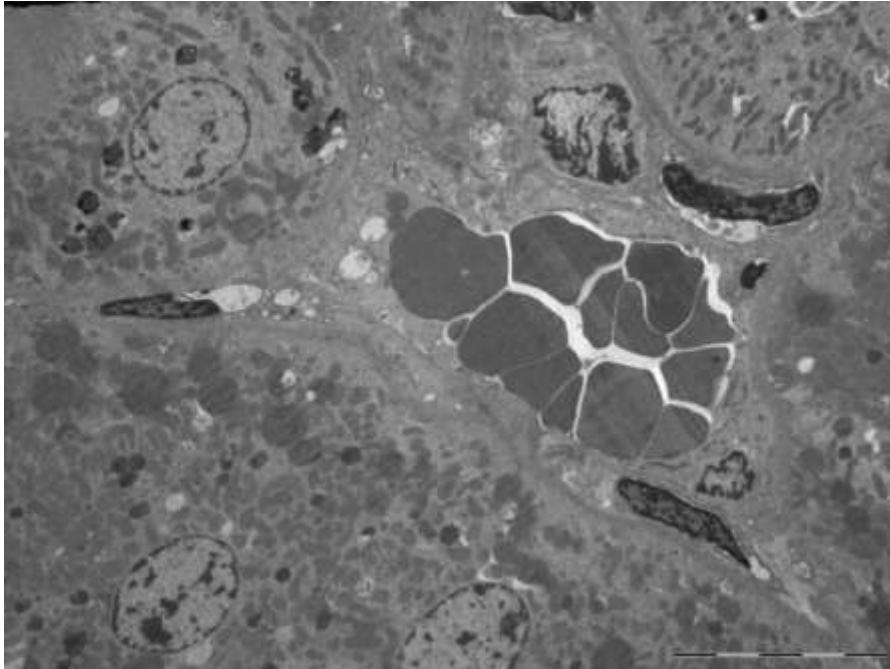
Resim 5d; Krista yapıları net olarak gözlenebilmektedir. Yer yer koful benzeri yapılar mevcuttur.

Grupların 48. Saat böbrek dokularında yapılan elektron mikroskopik incelemesinde;

1.grup (sham) 48.saat

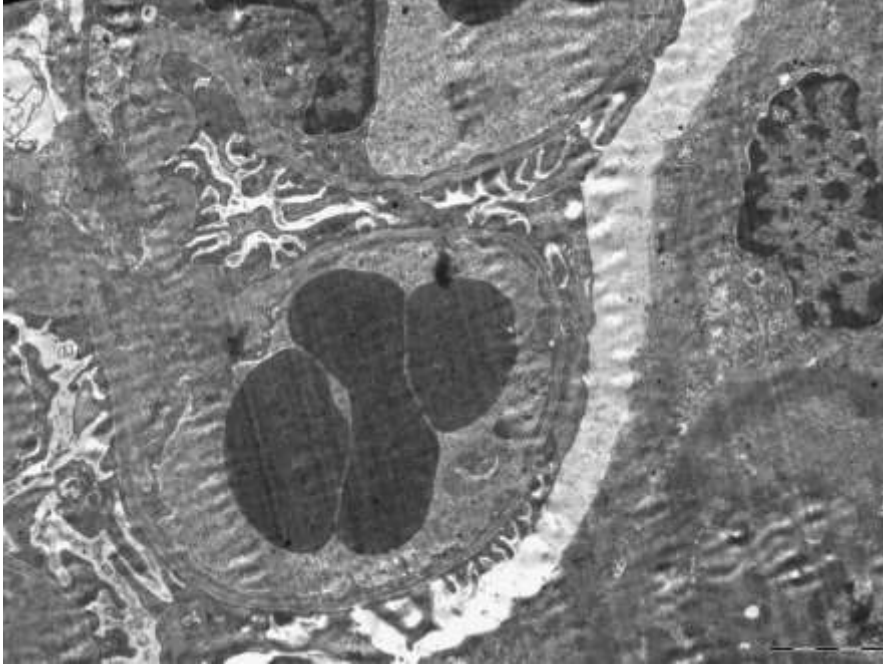


Resim 6a; Glomerular kapillerleri içeren bu bölgede, glomerular bazal membran podositleri ve kapiller endotelyumu ayırmakta ve yapısal bütünlüğün korunduğu gözlenmektedir.



Resim 6b; Proksimal katlantılı tübül, çekirdekler normal histolojik özellikler gösteriyor ve çok sayıda lizozom gözleniyor. Hücreler bütünlük arz ediyor.
Bol miktarda eritrosit gözleniyor.

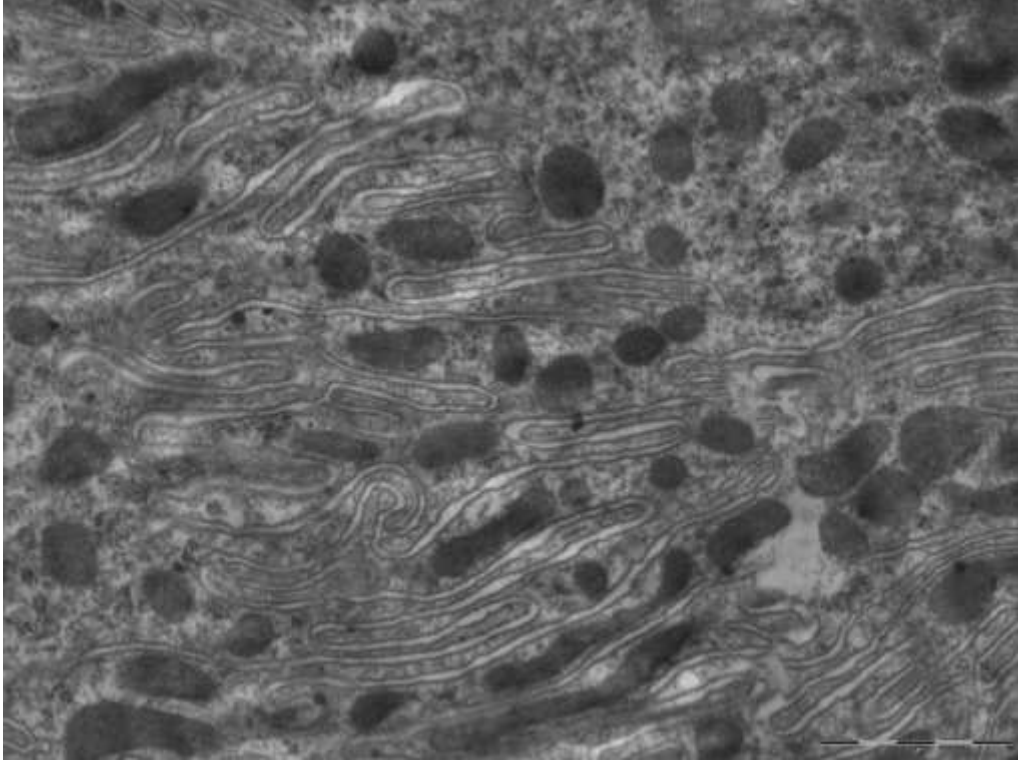
2.grup(kontrol) 48.saat



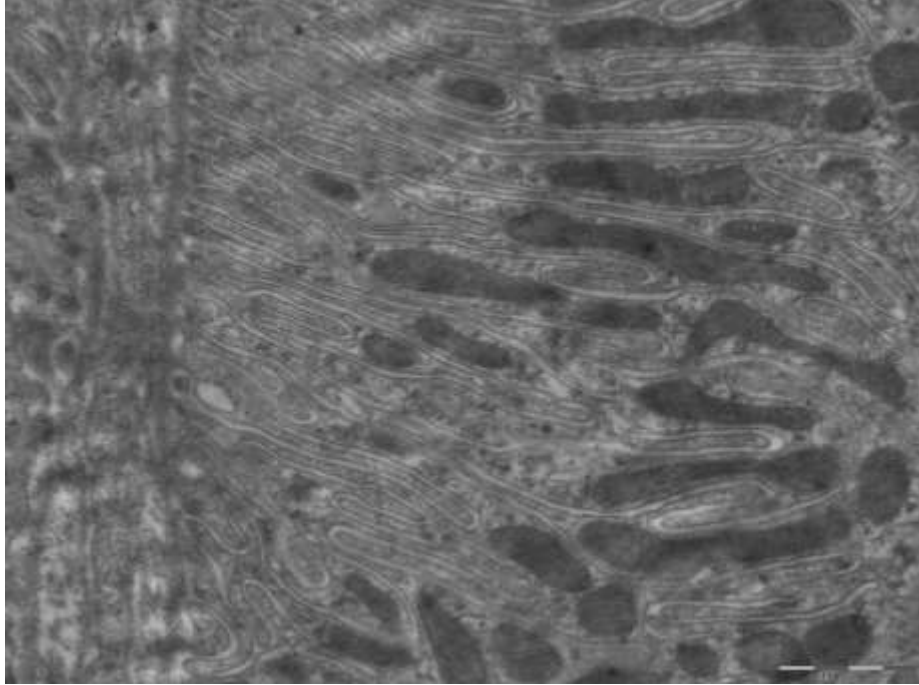
Resim 7a; Çekirdek dış zarında şişmeler gözlenmekte, podosit yapılarında SHAM grubuna göre büzülmeler ve düzensizlikler olduğu izlenmektedir.



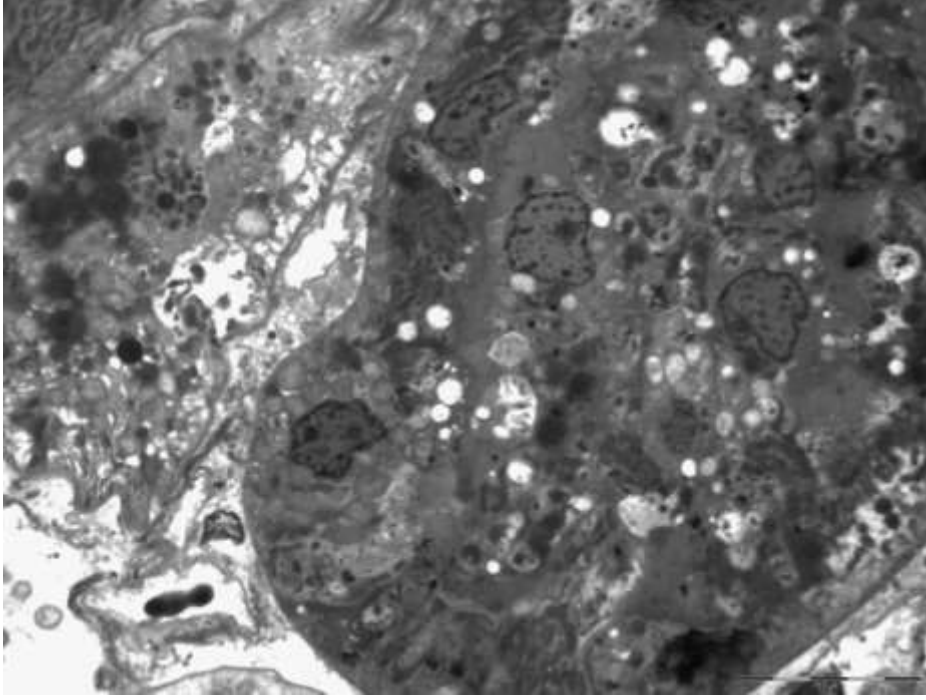
Resim 7b; Mikrovillus yapılarında düzensizlik ve bol miktarda büyük, koful benzeri yapılar gözlenmektedir.



Resim 7c; ER yapısının ileri derecede şiştiği gözlenmiş, mitokondrilerde krista ve çift zar yapısı saptanamayacak derecede silinmiştir. Stoplazmada yer yer erimeler göze çarpmaktadır.



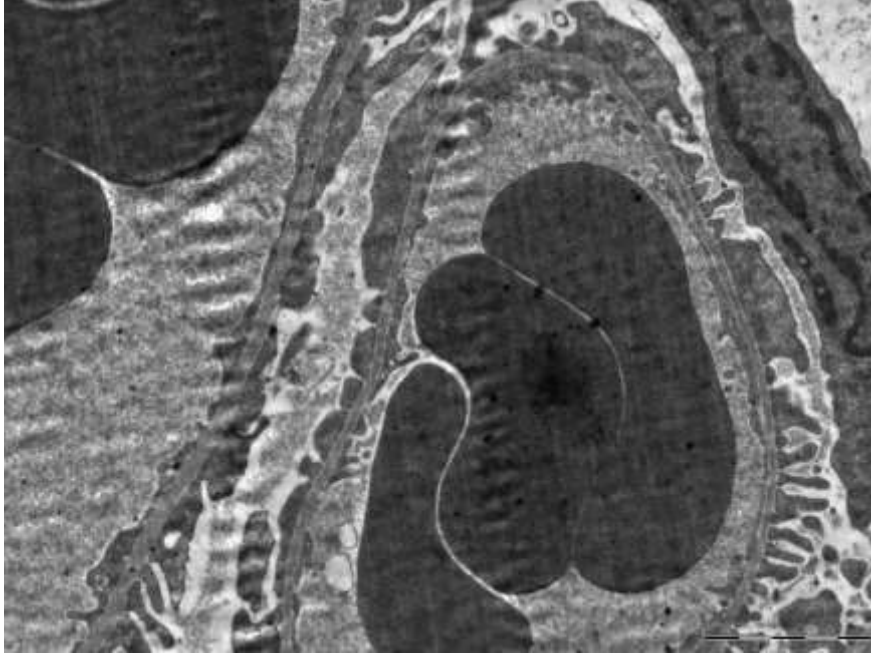
Resim 7d; Proksimal kıvrımlı tübül yapısında bazal lamina ve bazal yerleşimli mitokondriler normal görünümde dirler.



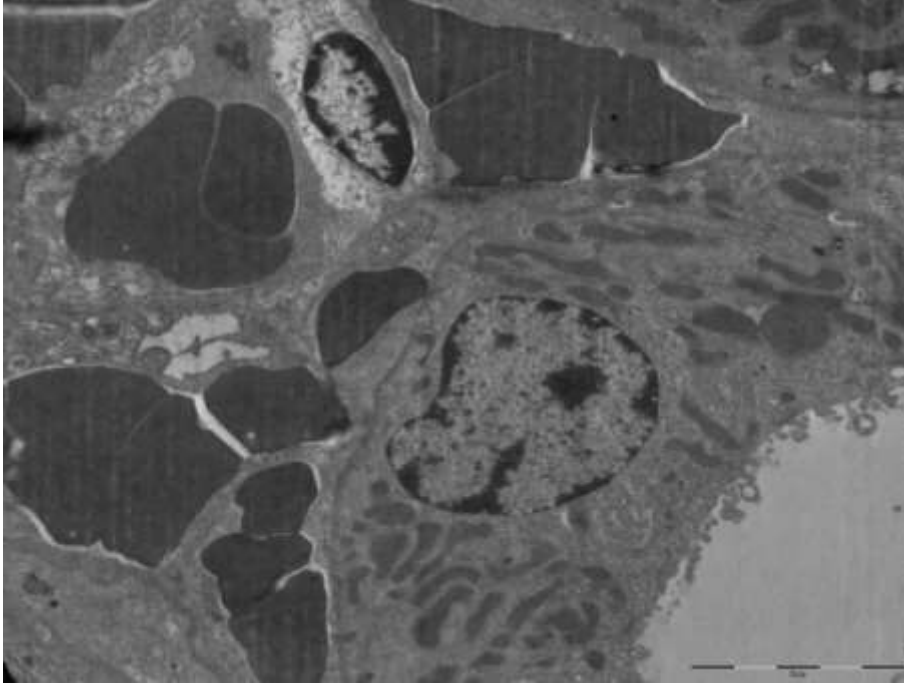
Resim 7e; sham grubu ile karşılaştırıldığında, tübülün düzensiz bir yapı gösterdiği, koyu bir protoplazmaya sahip olduğu, kofullara rastlandığı ve ödemden dolayı hücrelerarası bağlantıların açıldığı saptanmıştır.
3. grup(böbrek iskemi-böbrek sonkoşullanma) 48. saat



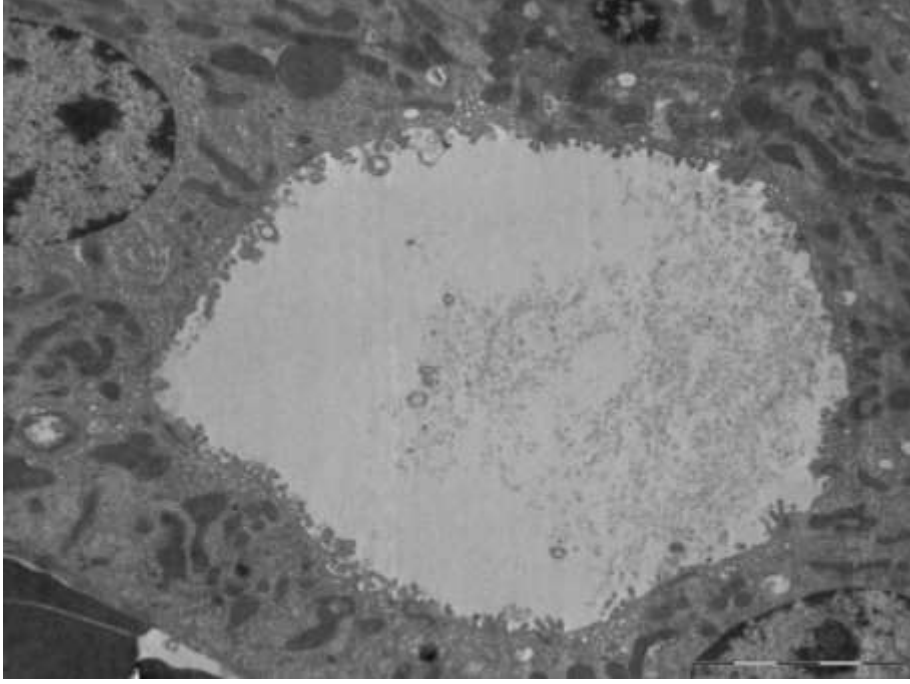
Resim 8a; Lümen kısmında bol miktarda eritrosite rastlanmaktadır.



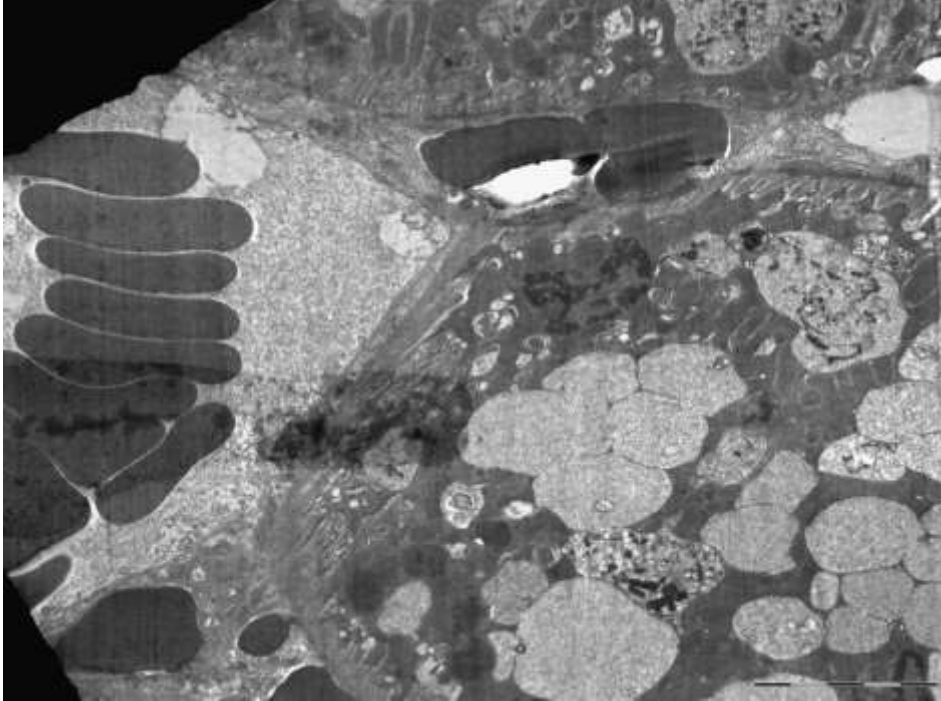
Resim 8b; Eritrosit bol miktardadır ve bazal membran ile podositler normal görünümündedir. Podosit yapılarında herhangi bir büzülme ya da azalma gözlenmemiştir.



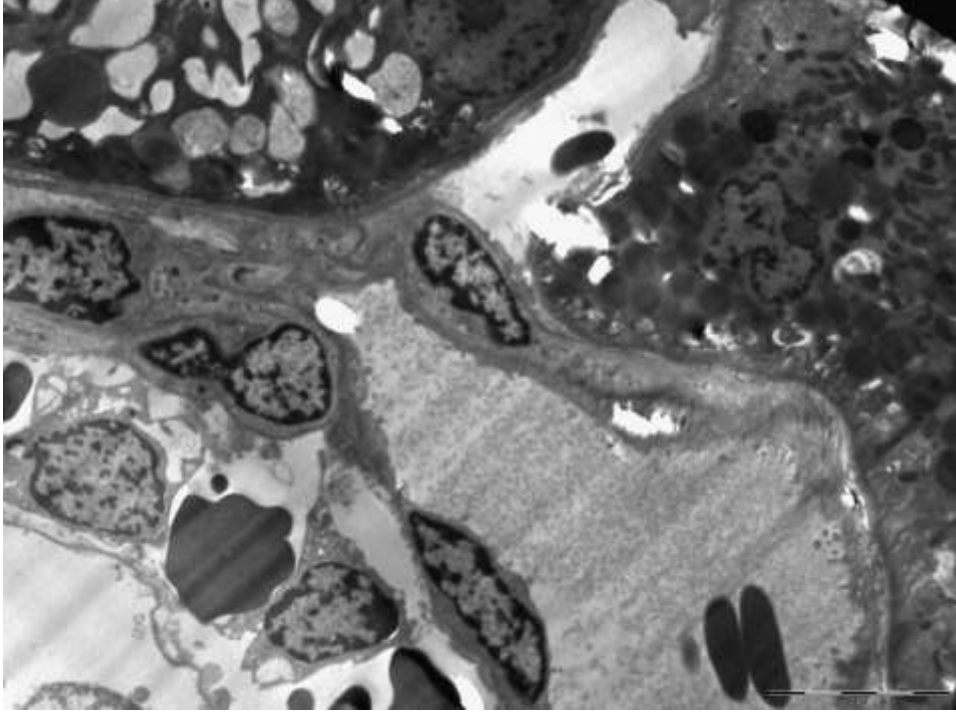
Resim 8c; Lümenlerin tümüyle eritrosit ile dolu olduğu, çekirdeğin normal görünümde olduğu ve mitokondri sayısının fazla olduğu dikkat çekmektedir. Çekirdekçik dikkat çekmektedir ve merkezdedir.



Resim 8d; Distal kıvrıntılı tübül normal morfolojik bulgular göstermiştir, bol mitokondri, normal çekirdek yapısı belirgindir.

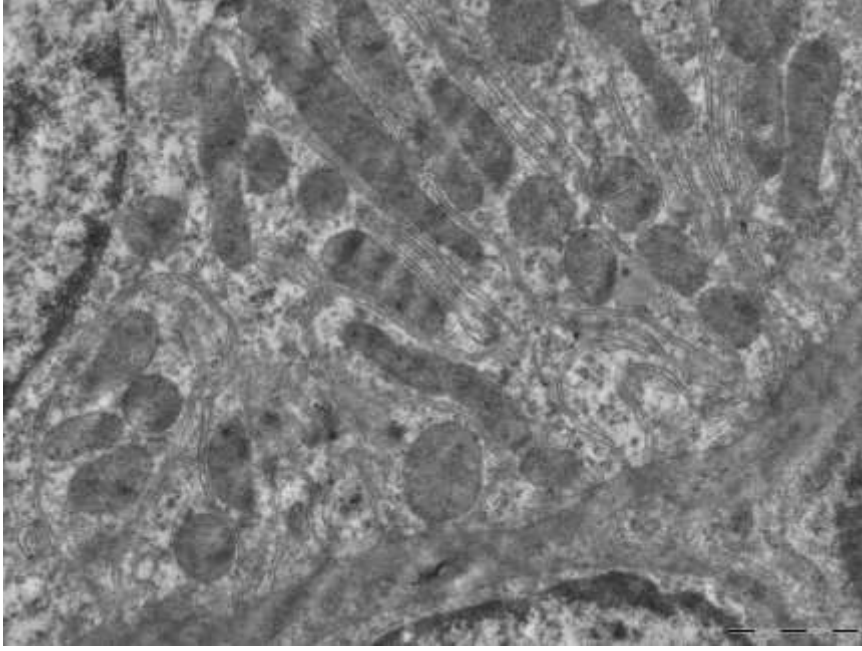


Resim 8e; Bol eritrosit gözlenmektedir. Protoplazmada bol miktarda ve büyük kofullara rastlanmıştır.

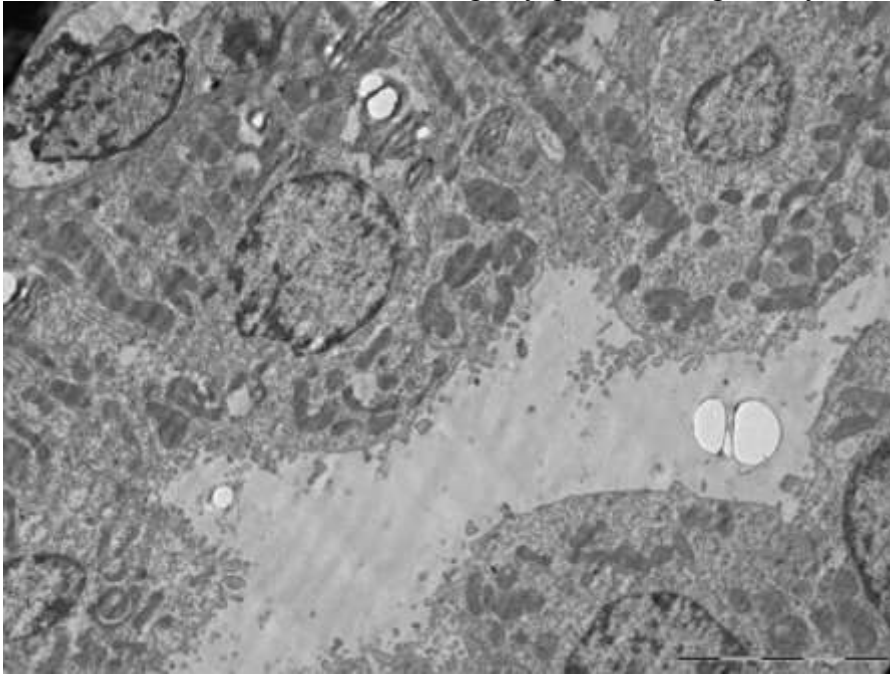


Resim 8f; Heterokromatik nükleus yapısı dikkat çekmekte ve çekirdekçik belirgin olarak gözlenmemektedir.

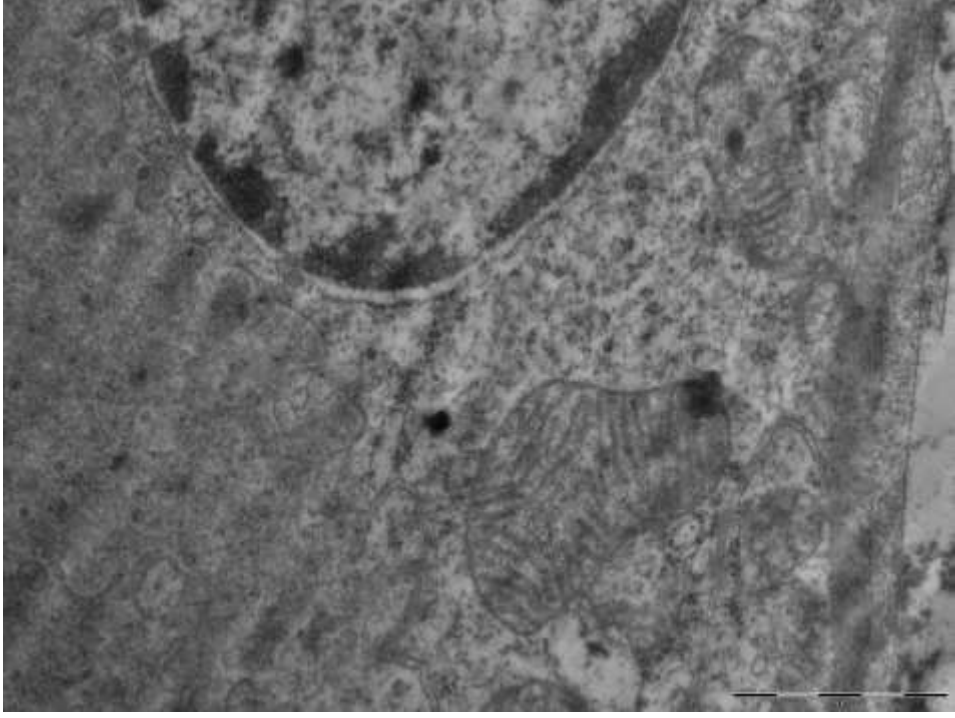
4. grup(karaciğer sonkoşullanma) 48 saat



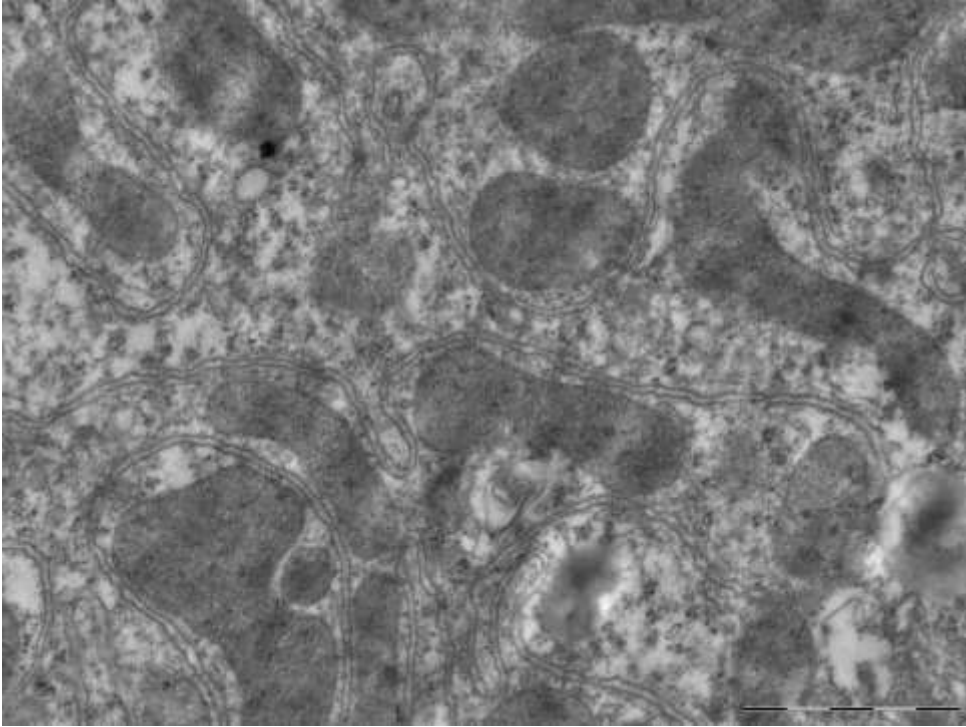
Resim 9a; Bol mitokondri ve düzgün yapıda ER'ler gözleniyor.



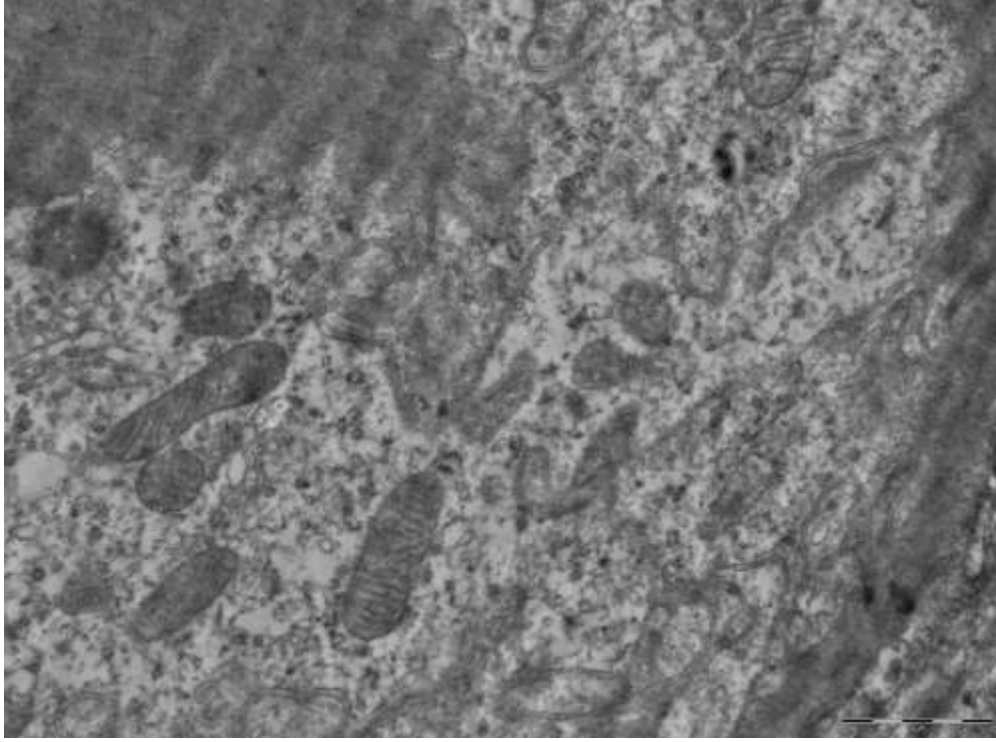
Resim 9b; Bol mitokondri ve ökromatin yapıda çekirdek gözleniyor, belirgin koful oluşumuna rastlanılmamıştır.



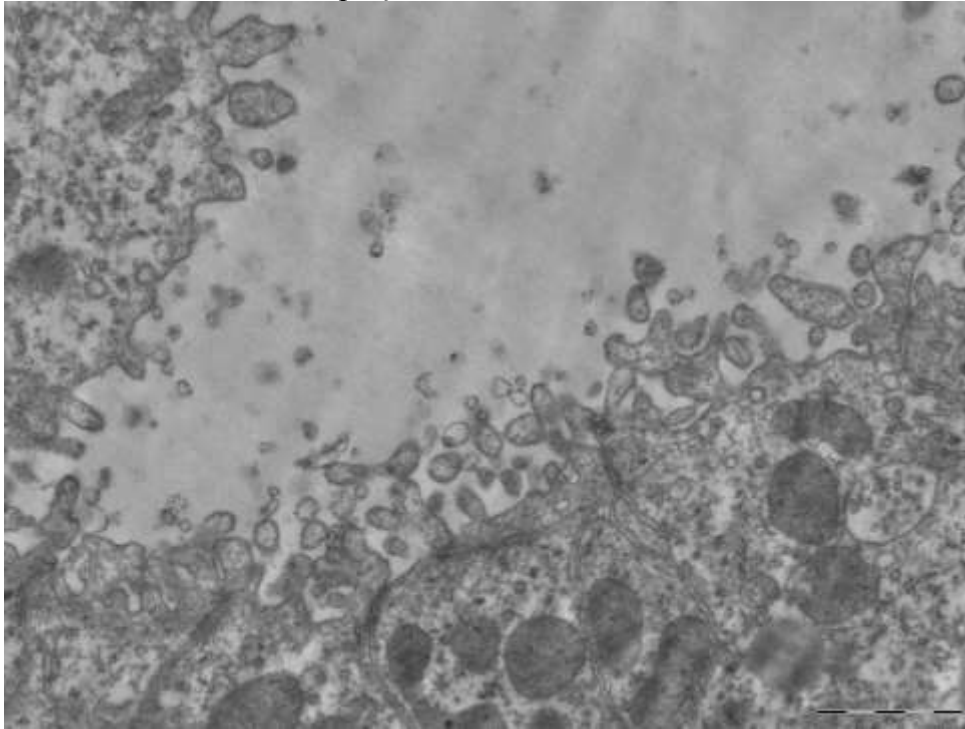
Resim 9c; Mitokondri krista yapısının iyi derecede korunmuş olduğu gözleniyor. Çekirdek çift zarı belirgin ve düzgün olarak izlenmektedir.



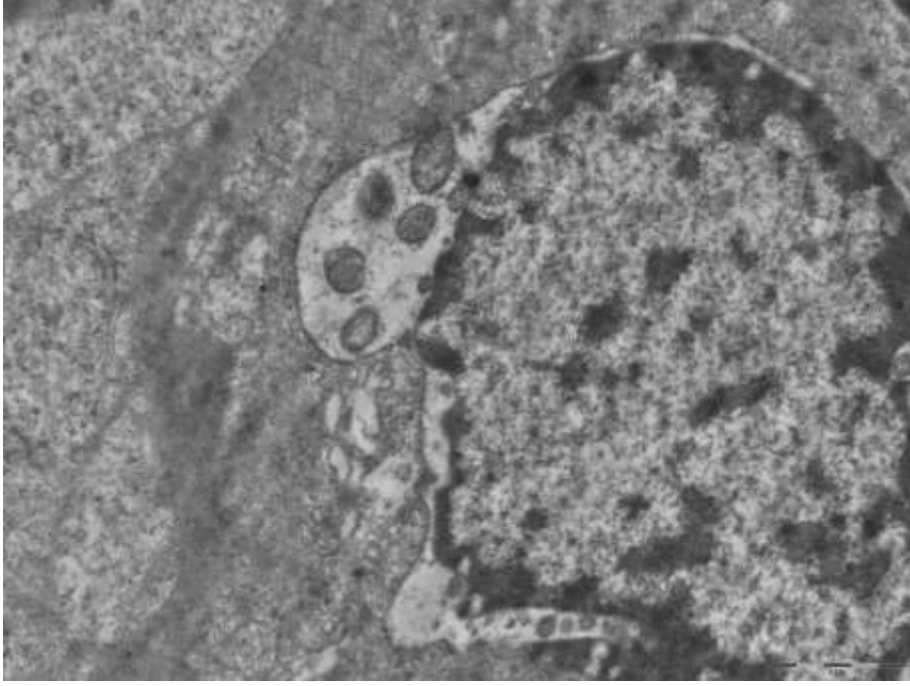
Resim 9d; Mitokondrilerde yer yer şişme ve anormal şekillere rastlanmıştır.



Resim 9e; Mitokondri krsta yapısının çok iyi korunduğu gözlenmiştir. Ancak diğer organellerin yapısı net olarak izlenememiştir. ER lerin yer yer parçalandıkları izlendi.

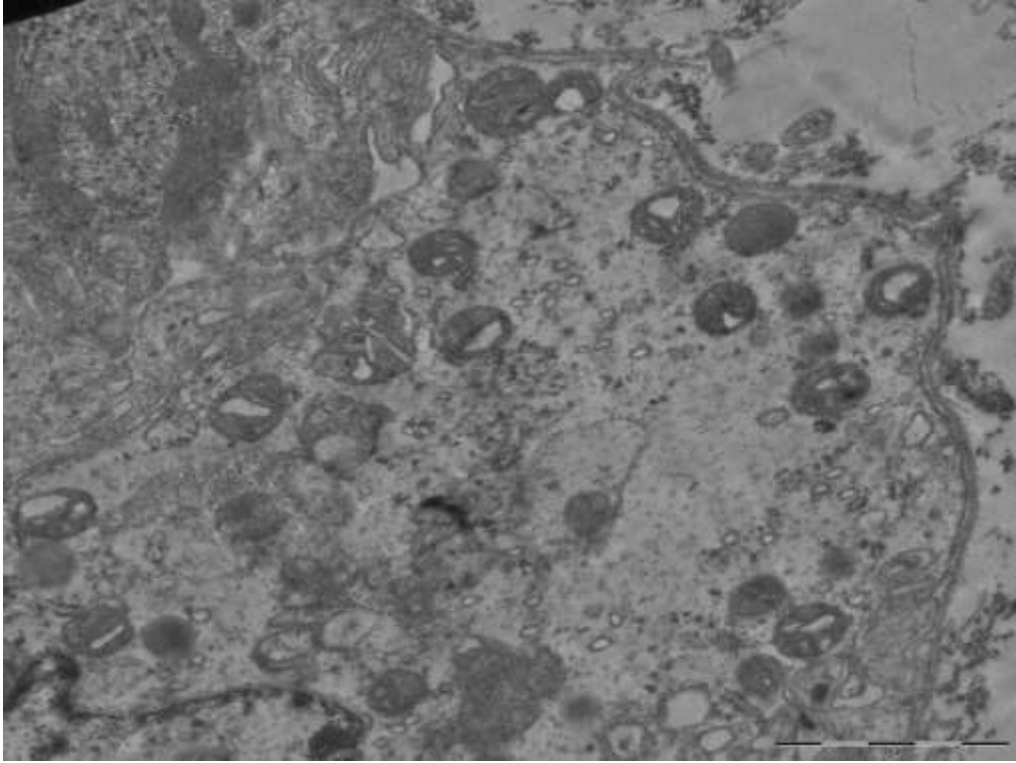


Resim 9f; Lümen bakan kısımda düzensiz yapıdaki mikrovillusların sayısında önemli ölçüde artış olduğu dikkati çekmektedir.



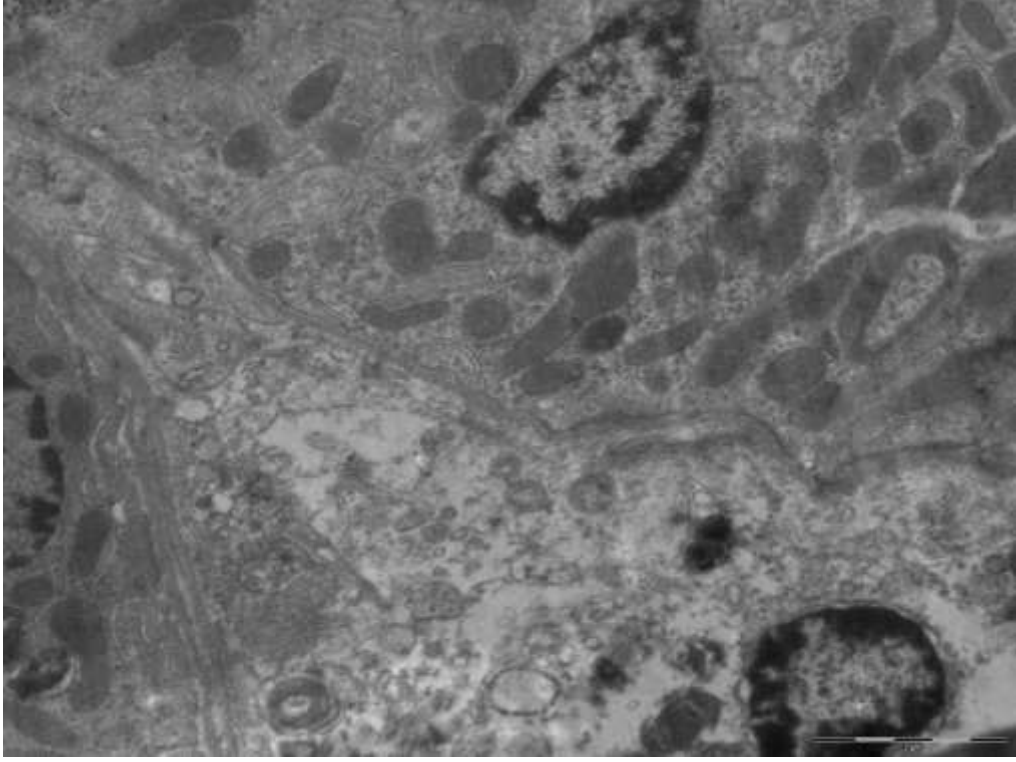
Resim 9g; Çekirdek dış zarında anormal derecede şişme ve blebbing benzeri yapılar olduğu ve bu yapıların içinde küçük veziküler yapıların bulunduğu gözlenmiştir.

5.grup(pravastatin sonkoşullanma) 48 saat

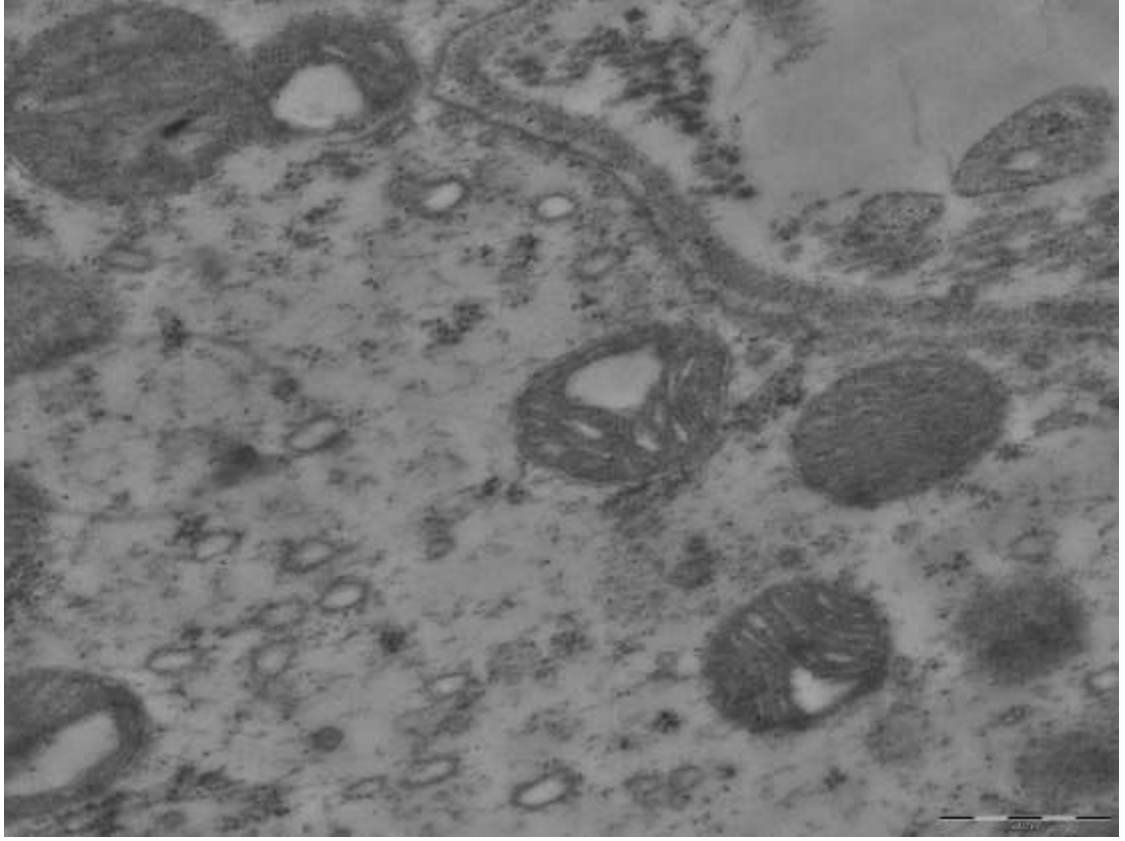


Resim 10a; Mikrografta en dikkat çekici bulgu mitokondrilerin oval ya da yuvarlak yapıda olduğu (şişmeye bağlı olabilir) ve kristalardaki açılmalara

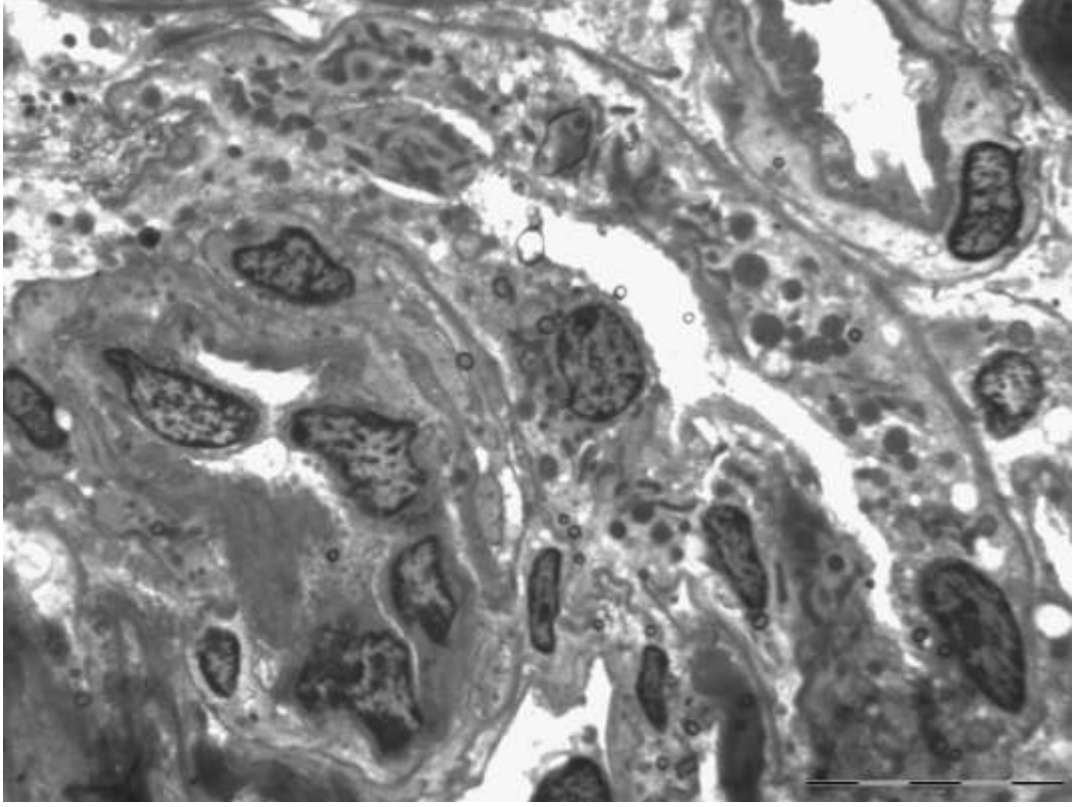
bağlı olarak mitokondri içinde meydana gelen vakuolar oluşunlardır. ER yapısında büyük ölçüde azalma olduğu görülmüştür. Bol miktada küçük kofullara rastlanmaktadır.



Resim 10b; çekirdeğin yoğun heterokromatik yapıda olduğu ve çekirdek dış zarının şişme gösterdiği saptanmıştır.



Resim 10c; Mitokondrilerdeki bulgunun daha büyük magnifikasyonda çekilmiş mikrografi (Şekil 8a' da bahsedilen)



Resim 10d; Yer yer ödemler olduğu, çekirdek görünümlerinin düzgün yuvarlak şekillerde olmadığı ve yoğun heterokromatik yapıda oldukları gözlenmiştir.

5. TARTIŞMA

İskemi bir organa gelen kan akımının çeşitli nedenlerle yetersiz hale gelmesi veya durmasıdır. Reperfüzyon ise iskemiye neden olan etkenin ortadan kaldırılarak dokuya kan akımının yeniden sağlanmasıdır(71).

İskemi, hücrenin enerji mekanizmasını, iyon transportunu ve hücre içi volüm regülasyonunu bozar, bunun sonucunda hücre iskeleti deforme olur. Hücre içinde kalsiyum birikir, fosfolipid metabolizması bozulur, serbest radikal formasyonu başlar ve hücresel düzeyde böbrektübüler genişleme, vazokonstriksiyon, ödem, endotel adezyon moleküllerinde artışına neden olur. Bunların sonucunda hücre nekroza uğrar(73,74,75).

Her dokunun kendine göre iskemiye dayanma süresi vardır ve iskemi süresince oluşacak hasar belli bir seviyeye ulaşmadıysa reperfüzyonla tekrar düzelmeye başlar. İskemi süresince dokuda özellikle O₂ düzeyi azalır ve oksidatif mekanizmalar bozulur. Bu durum sonucunda iskeminin süresi ve şiddetine bağlı olarak dokuda hasar meydana gelmektedir. Reperfüzyonla beraber tekrar kan akımıyla beraber özellikle serbest oksijen radikalleri ve inflamatuvar hücreler dokuda artmaya başlar. Bu artışla beraber dokuda iskemik hasara ek olarak reperfüzyon hasarında eklenmektedir. Hatta reperfüzyonla oluşan hasarın iskemik hasardan daha şiddetli olabileceği gösterilmiştir(76,77). Çelişki gibi görünse de, kan akımının tekrar başlaması, daha fazla hücre hasarına neden olmaktadır; bu da reperfüzyon hasarı olarak bilinmektedir.

Renal iskemi; Böbrek transplantasyonu, kısmi nefrektomi, sepsis, çeşitli ürolojik girişimler gibi klinik durumlarda görülür. İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon hızında azalma, tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışı meydana gelebilmektedir(72). Renal iskemi sonrası oksijenlenmiş kan ile reperfüzyon uygulanması, serbest radikallerin oluşmasına, lipid peroksidasyonuna, polisakkarit depolimerasyonuna ve DNA yapısının bozulup, yıkılmasına neden olur. Hasarlanmış endotelde vazodilatasyon olmaz; vasküler düz kaslar etkili vazokonstriktörler salgılar ve şişer. Bunun sonucunda da vasküler geçirgenlik artar. Renal distal nefronlarda, hücreler arası birleşim

yerleri bozular. Bu da sodyumun emilimini bozarak, hücre polaritesinin kaybına yol açar. Vazokonstrüksiyon, hücre şişmesi, ekstraselüler ödem oluşur. Sonrasında, lökosit ve trombositlerin endotele yapışmasıyla doku perfüzyonu daha da bozulur(78,79,80). Renal kan akımında oluşan aksamalardan sonra tekrar akımın sağlanmasıyla oluşan reperfüzyon sonucu doku hasarı oluşur. Belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı, yine; vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan, doğal antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Yani sağlıklı bir organizmada, oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge içindedir. Oksidanlar, belirli düzeyin üzerine çıkar veya antioksidanlar yetersiz olursa, yani denge bozulursa; söz konusu oksidan moleküller, organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbohidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimlerini bozarak zararlı etkilere yol açarlar. Çoğu hastalıklarda artmış ROR hastalığın ana sebebi değildir. Ancak primer bozukluğa ikincil olarak oluşurlar ve ardından patogeneizde yer alırlar(81).

Organlar transplantasyonlar başta olmak üzere bir çok cerrahi uygulamada kaçınılmaz olarak iskemiye maruz kalmaktadırlar. İskeminin organ üzerine oluşturduğu hasar ve iskemi sonrası reperfüzyonun etkileri, üzerinde birçok çalışma yapılmasına rağmen henüz tam olarak aydınlatılmamış kompleks bir olaydır. Son dönemlerde iskemi-reperfüzyonun oluşturduğu hasarı engellemede mekanik ve/veya farmakolojik preconditioning(ön koşullanma) ve postconditioning(son koşullanma) deneysel ve klinik çalışmalarda geniş yer bulmuştur. Postconditioning remote(uzak organ) etkisi ise sonuçları net olarak ortaya konmamış dikkat çeken diğer bir olgudur. Deneysel olarak gerçekleştirilen iskemiden “hemen önce” uygulanan kısa süreli tekrarlayan iskemi-reperfüzyon epizodları iskemik önkoşullanma, “hemen sonra” uygulananlar ise sonradan koşullanma olarak adlandırılmış ve bu güçlü endojen mekanizmaların dokuyu iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkileri bugüne dek birçok organda, birçok çalışma ile gösterilmiştir. Bugüne dek kalp cerrahisinden organ transplantasyonuna kullanım alanı bulan bu fenomenlerle ilgili birçok etki mekanizması ileri sürülmüştür.

Son yıllarda cerrahi tekniklerde oluşan ilerlemeler sonucu organ transplantasyonlarının artması; organ ihtiyacı ve transplantasyon sonrası greftlerin canlılığının korunması gibi sorunları doğurmuştur. Remote postconditioning etki; İskeminin kaçınılmaz olduğu cerrahi girişimlerde, özellikle organ transplantasyonlarında, organ canlılığını ve yaşam sürelerini artıran basit ucuz etkili bir yöntem olmaya adaydır.

İskemik postconditioning in İskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu etkisi birçok organda gösterilmiştir. İlk olarak 1986 da Murry ve arkadaşları iskemik ön koşullanma kavramını koroner iskemide ortaya koymuşlardır(82). Bundan dört yıl sonra serebral iskemide uygulanmıştır. Ancak iskemik ön koşullanmanın uygulanabilir olmaması, serabral iskemik hastalıkların takibinin zor olmasından dolayı çalışmalar kısıtlı kalmıştır.

2002 de E Ateş ve arkadaşları renal iskemi ve karaciğer iskemik önkoşullanma üzerinde çalışmışlar ve olumlu sonuçlar almışlardır. Bu çalışmada ön koşullanmanın lokal olarak etkinliğinin bir çok çalışma ile kanıtlandığı ancak uzak organ etkilerinin net olarak ortaya konulmadığı üzerinde durulmuş. Karaciğerde oluşturulan iskemik önkoşullanmanın böbrek iskemi reperfüzyon hasarı üzerindeki etkisi araştırılmıştır(85).

Önkoşullanmanın uzak organ etkisinin patofizyolojisi net olarak bilinmemesine rağmen, kollateral kan akımının oluşması, koruyucu protein sentezi, mitokondrial ATP sentez inhibisyonu, paradoksik koruma artışı, antioksidan üretimi bu konuda üretilen teoriler olarak açıklamada yetersiz kalmıştır.

Sadece iskemi reperfüzyona maruz bırakılan böbreğin uzak organ (karaciğer) iskemisi ile önkoşullanma yapılan gruba göre daha fazla hasar gördüğü tespit edilmiştir. Bu çalışmada ilk 24 saatlik erken dönem sonuçlar ortaya konmuştur.

Çalışma sonucu olarak karaciğerde uygulanan uzak organ kısa iskemik(önkoşullanma) uygulamanın böbrek iskemisi üzerinde yararlı olduğu gösterilmiştir(85).

2003 de zhao ve arkadaşları son koşullanmayı ortaya atmışlar ve uzun dönem iskemik zararları baskılayabilir olduğunu göstermişleridir.

Fakat iskemik peryottan sonra organa uygulanacak olan kısa iskemik dönemler iskemiye ve hipoksiye duyarlı organlarda hasara yol açabileceği söylenmiş ve bu uygulamayı aynı organ üzerinde kısıtlamıştır(52).

2011 Ren ve arkadaşları uzak ve iskemiye duyarlı olmayan organlarda uygulanan kısa süreli iskemik peryotların asıl iskemiye maruz kalan organlar üzerinde son koşullanma etkisinin yarattığını ortaya koymuşlardır(86). Pignataro ve arkadaşları 2013 de RİP(remote-uzak organ-iskemik önkoşullanma) in endojen bir koruyucu etkiyle beynin iskemik toleransını artırdığını ortaya koymuşlardır. İlgili çalışmada RİP in nörolojik fonksiyon üzerine bir etkisi saptanmamış ancak enfarkt alanını belirgin azalttığı belirlenmiştir(87).

Li ve arkadaşları 2006 da Ren ve arkadaşlarının 2009 da SVO sonrası beyin iskemisi üzerinde göstermiş oldukları gibi uzak organ ön koşullanmanın miyokardı iskemi referfüzyon hasarından koruduğunu ortaya koymuşlardır. Bu koruyucu etkinin çeşitli sinyal yollarından veya protein kinazların aktivasyonu ile ortaya çıktığı izlenmiştir(88,89).

Bazı çalışmalarda uzak organ ön koşullanmanın gastrik mukozayı iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruduğu ortaya konmuştur. Ayrıca uzak organ iskemik son koşullanmanın kardiyak enfarktüs boyutunu ve SVO sonrası beyin hasar oranını azalttığı ortaya konmuştur(90).

Yapılan bir çalışmada perkütan koroner yaklaşım gerektiren hastalarda kalp damarlarında uygulanan kısa iskemik uygulamaların akut böbrek yetmezliğine karşı koruyucu olduğu tespit edilmiştir(91).

Przyklenk ve arkadaşları 1993 de circumfleks koroner arterde yapılan kısa süreli iskemilerin sol anterior koroner arter tıkanıklığına bağlı iskemiye azalttığını ortaya koymuştur. Bunu takiben deneysel çalışmalar uzak organ kısa süreli iskemilerininide iskemi reperfüzyon hasarınıda azalttığı göstermiştir(92).

Uzak organ iskemik koşullanmanın böbrek üzerindeki koruyucu etkisi ilk olarak 2002 yılında Ateş ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir(85). 2009 yılında Lazaris ve arkadaşları infrarenal arteri kısa süreli oklude ederek böbreğin iskemik toleransının arttığını göstermiştir(94). Wever ve arkadaşları

aynı koruyuculuğu ekstremitte iskemileri ile ortaya koymuştur(94). Aynı çalışmada iki ekstremitteyi iskemiye maruz bırakmak daha etkili bulunmuş buda koruyuculuğun koşullanan dokunun kitle ve hacmi ile alakalı olduğunu ortaya koymuştur.

RİC in hücrel ve moleküler mekanizması 2007 kanoria ve arkadaşları 2008 yellon ve tapuria ve arkadaşları tarafından çalışılmış bir biri ile alakalı üç yolak ortaya konmuştur(95,96).

Endojen faktörlerin oluşumu

a) Koruyucu sinyallerin uzak organa ulaşması

b) Uzak organda oluşan koruyucu etki

Ayrıca bazı çalışmalarda etki mekanizması olarak aşağıdaki yolaklar ortaya konulmuştur;

Nöral yolak: Uzak organla iskemiye maruz kalan organla arasında ki bağlantılardır. Otonom sinir sistemi ve duyuşal sinirlerin c liflerinin etkin olduğu ortaya konmuştur.

Hümorale yolak: Kan kaynaklı endojen mediatörleri temsil eder.

Sistemik respons: İmmün hücrelerin düzenlenmesini içerir. Proenflamatuar mediatörler rol alır.

Uzamiş RIPC(remote iskemik precondition): geçmiş çalışmalarda reperfüzyona bağı enflamatuar hasarın yalnızca erken dönemde değı geç dönemde de etkili olduğu anlaşılmıştır.(boyle ve ark)(97). Zhao ve arkadaşları köpek kalbinde reperfüzyon hasarına bağı myokardial hasarın reperfüzyonun erken döneminde (6 saat) geç dönemine kadar (24-48 saat) olduğu gösterilmiştir. Geç dönem reperfüzyon hasarı iskemi reperfüzyon sonrasında meydana gelecek hasarı tedavi etmek için bir ara dönem olduğunu göstermiştir(98). Wei ve arkadaşları 2011 yılında yaptıkları çalışma ile MI sonrası uygulanan RIPC ın iki hafata tekrarlanır ise reperfüzyon hasarını belirgin derecede azalttıkları saptamışlardır(99). Shimzu ve arkadaşları 2010 yılında uzamiş RIPC nin dolaşımdaki nötrofil fonksiyonlarını negatif yönde etkileyerek hasara karşı koruyucu etkileri olduğu göstermişlerdir(100).

Organ transplantasyonunda RIPC(remote iskemik precondition): hostun organ ve dokularını korumanın yanı sıra transplante edilen organıda hasardan koruduğu tespit edilmiştir. Konstantinov ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada kalp nakli sonrası uygulanan RIPC nin transplante edilen kalbi akut iskemi reperfüz hasarından koruduğunu göstermişleridir. Bu çalışmada RIPC nin organ transplantasyonunda potasyel koruyucu bir yöntem olarak göstermişleridir(101).

RlpostC(remote iskemik postcondition): iskemiye drençli uzak bir organda yapılan kısa süreli iskemi peryotlarının iskemiye maruz kalmış olan asıl organ üzerindeki iskemi reperfüzyon hasarını ortaya koymak için araştırılmıştır. Cameron ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları çalışmada beyin üzerinde oluşan iskemik hasarın iskemi sonrası ekstremelerde uygulanan kısa iskemik peryotlar sonrası azaldığını ortaya koymuşlardır(102).

Noninvaziv ektremite iskemisinin fokal serabral iskeminin etkilerini azalttığını ortaya koyan bir çalışmada yolak olarak STAT 3 artırılması ve apoptozisin azaltılması ortaya konmuştur(103).

Yun-he kim ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmada deneysel olarak oluşturulan SIRS üzerinde RIPC nin etkisini araştırmışlardır. Sepsis sırasında karaciğerin kilit rol oynadığı NF kB nin aktivasyonun karaciğer tarafından indüklendiği heme oksijenaz 1 in aktivasyonun ise NF-kB yi inhibe ettiği üzerinde durulmuş RIPC inin hem oksijenaz 1 i artırdığı ortaya konmuştur. Sonuç olarak RpostC nin sağ kalımı artırdığı ve proenflamatuar stokinleri azalttığını bulmuşlardır. RpostC nin SIRS üzerinde koruyucu etkili olduğunu göstermişleridir(104).

SOD ve katalaz en önemli enzimatik antioksidan sistemlerdir. SOD hidrojenperokside dönüşerek poliansatüre yağ asitlerini degrade eder ve MDA yı oluşturur. Bu sitotoksik reaktif aldehid vücuttaki oksidatif stres ölçmek için biyomarker olarak kullanılır. Son yıllarda iskemik koşullanmanın uzun süren letal iskemi sürecini hafiflettiği ortaya konmuştur. Yakın tarihte son koşullanmanın (reperfüzyon başlangıcı itibari ile kısa aralıklı iskemi oluşturma) ön koşullanmadan daha pratik ve daha

koruyucu olduğu ortaya konmuştur. Bu çalışma renal son koşullanmanın iskemi reperfüzyona bağlı karaciğer hasarını azalttığı MDA yı azalttığı SOD u artırdığı izlenmiştir(105).

İlk defa kalpte çalışılan ve daha sonra karaciğer, beyin, böbrek, iskelet kası, deri flebi ve ince barsak ve mide mukozası gibi birçok organda araştırılıp, birçok çalışmada da hücre/ doku koruyuculukları gösterilmiş olan ve kateter-bazlı reper-füzyon, kalp cerrahisi ve organ transplantasyonu gibi önemli ve ilgili organlarda gittikçe yaygınlaşan bir kullanım alanı bulan iskemik önkoşullanma ve Sonkoşullanma'nın mekanizmaları ile ilgili bugüne dek birçok etken öne sürülmüştür. MitoKATP kanallarının da temel ve önemli mekanizmalardan biri olma olasılığı üzerinde durulmuştur. Bununla birlikte; mekanizmalar ve etkinlikleri ile ilgili daha ileri, multidisipliner, deneysel ve klinik çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Sonradan-koşullanma ve mitokondriyal K(ATP)" kanalları; 2005 yılında Obal ve ark, seksen rat üzerinde sevoflu-ran yoluyla oluşturdukları koşullanmaların kardiyak koruyucu etkisinde mitoKATP kanallarının rolü üzerinde çalışmış ve kanalların -daha önce bilinen- iskemik önkoşullanma'da etkisinin yanında, Sonkoşullanma'da da etkili olduğunu göstermişlerdir. Yine 2007'de, SK'nın kalp ko-ruyucu etkisini kappa-Opioid reseptörleri ve mitoKATP kanalları aracılığıyla gerçekleştirebileceği ileri sürülmüştür. Kim ve ark, domuz pulmoner arteriyal endotelial hücre kültürlerini –iskemiye benzer bir durum olarak- oksijen-glu-koz yoksunluğuna maruz bırakmışlardır. Daha sonra, solu-num anesteziği olan izofluran ve desflurani, erken reper-füzyonu taklit eden dönemde uygulamış ve izofluran SK'sının etki mekanizmasının mitoKATP kanalları ve PKC aracılığı ile gerçekleşebileceğini öne atmışlardır. Son zamanlarda Bein ve ark. iskemi sonrası oluşan reper-füzyonun yarattığı hasardan ilgili organın korunması anlamında olan SK'nın mekanizmasında anahtar etkileyici olarak, mito- KATP kanalları üzerinde durmuştur. Yine iki ay önce Sumi ve ark Japonya'da granülosit koloni stimülan faktör (GCSF) üzeri-nde çalışmışlardır. GCSF'ün miyokard enfarktüsü sonrasında, kardiyak fonksiyonları artırıcı etkisi bildirilmiştir. Bununla birlikte GCSF'ün infarkt

sonrası akut etkisinin, SK'daki sinyali-zasyon yolları ile aynı yolları kullanıp kullanmadığı hala netlik kazanmamıştır. Bu araştırmanın sonucunda reperfüzyon sonrası GCSF uygulanmasının miyokard infarkt alanını, PI3K-Ak, ekstrasellüler sinyal regüle kinaz kaskad (ERK) ve hedefleri en-dotelyal nitrik oksit sentetaz (eNOS), p70S6 kinaz, GSK3β ve mi-toKATP kanalları aktivasyonu aracılığı ile azalttığı gösterilmiştir(106).

Normal bir insan böbreğinde, bir saatten kısa süren sıcak iskemi, geçici disfonksiyondan başka hasar yapmazken, üç saat ve daha uzun süren sıcak iskemi ise geriye dönüşü olmayan hasara neden olmaktadır(79). Renal cerrahi operasyonlarda, operasyonun gereği olarak, böbreğin anatomik pozisyonunun bozulup farklı yönlere yer değiştirilmesi durumunda renal vasküler hilüsün etkilenerek kan akımının azalması ya da böbreğin bazı bölgelerinin basıya bağlı olarak iskemide kalması kaçınılmazdır. Operasyonlardaki bu iskemi süresi 5-10 dk gibi kısa bir zaman olabileceği gibi, 1 saate kadar da uzayabilir. Kan akımının tekrar sağlanmasıyla, belirtilen İ/R hasarı meydana gelmektedir.

Deneysel böbrek İR hasar modeli oluşturmak için farklı iskemi ve reperfüzyon süreleri kullanılmıştır. Williams ve ark.(107) renal arter ve veni 45 dk. klempleyerek iskemi oluşturdukları çalışmalarında, reperfüzyondan sonraki 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 9, 24. saatlerde ve 1 hafta sonra kan ve doku örneklerini almışlardır. Renal hasarın en erken 45 dk'lık iskemiye takiben 4. Saatte başladığını bildirmişlerdir Bozkurt ve ark (108) çalışmalarında 45 dakika iskemi sonrası 60 dakika reperfüzyon uygulanmış ve 60 dakika sonunda ratlar sakrifiye edilmiştir. Williams ve ark.(107) ile Cochran ve ark.(109) reperfüzyon sonrası renal hasarın en erken 4. Saatte görüldüğünü belirtmişlerdir. Bu veriler ile uyumlu olarak bu çalışmadaki deneysel modelde 45 dk iskemi sonrası reperfüzyon ve 24. Ve 48 saatlerde doku ve kan örnekleri alınması prosedürü uygulandı. Çalışmamızdaki model ile renal hasarın oluştuğu histomorfolojik olarak saptandı. İskemi Reperfüzyon grubu

ile Sham grubu arasında histomorfolojik hasar skorları yönünden anlamlı fark bulunması İR modelinin doğru uygulandığını göstermektedir.

Renal İ/R hasarı, glomerüler fonksiyon bozukluğuna ve tübüler hücre hasarına neden olmaktadır. Serum üre ve Cr seviyelerinin yükselmesi, hasarlı böbreklerde fonksiyon bozukluğunun en iyi göstergelerindendir(110).

BUN: Protein yıkımının son ürünü olarak karaciğerde sentezlenen ürenin plazma değeri böbrek fonksiyonlarının incelenmesinde kullanılır(111). İ/R sonrasında serum BUN miktarındaki artış akut böbrek yetmezliğinin göstergesi olabilmektedir. Çalışmamızda İ/R sonrası serum BUN düzeyi incelendiğinde tüm gruplarda Grup I'e oranla anlamlı derecede yükselme görüldü. Bu durum İ/R'nin böbrek fonksiyonlarını olumsuz etkilediğini düşündürdü.

Gruplar 24. saatteki BUN değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında BUN değerlerinin artmış olduğu saptandı. Grup I e göre grup II,III de BUN değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu artış; grup I & grup II(P = 0,075), grupII &grup III(P = 0,975), grup II & grup IV(p=0,045), grup III & grup IV (P = 0,068), grup I & grup V(p=0,155) ve grup II & grup V(p=0,061) olarak saptandı.

Gruplar 48. saatteki BUN değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında BUN değerlerinin artmış olduğu saptandı. Grup I e göre grup II,II de BUN değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu artış; grup I & grup II(P = 0,075), grupII &grup III(P = 0,975), grup II & grup IV(p=0,145), grup III & grup IV (P = 0,568), grup I & grup V(p=0,357) ve grup II & grup V(p=0,060) olarak saptandı.

Kreatinin: Gruplar 24. Saatteki kreatinin değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında kreatinin değerlerinin yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II,III,IV de kreatinin değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu artış; grup I & grup II(p=0,000), grupII &grup III(p=0,010), grup II & grup IV(p=0,003), grup III & grup IV (p=0,672), grup I & grup V(p=0,125) ve grup II & grup V(p=0,001) olarak saptandı.

Gruplar 48. Saatteki kreatinin değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırdıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında kreatinin değerlerinin yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II,III,IV de kreatinin değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu artış; grup I & grup II($p=0,000$), grupII & grup III($p=0,006$), grup II & grup IV($p=0,000$), grup III & grup IV ($p=0,128$), grup I & grup V($p=0,277$) ve grup II & grup V($p=0,000$) olarak saptandı.

Gruplar 24 ve 48. Saat serum kreatinin değerleri açısından kendi aralarında karşılaştırdıklarında; grupların kendi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmedi($p>0,005$).

Doku katalaz: Gruplar 24. saatteki böbrek katalaz değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırdıklarında; grup I ve grup II ve III arasında katalaz değerlerinin yükseldiği, grup IV de ise düşüş saptandı. Grup I e göre grup II ve III de katalaz değerlerinin yükseldiği, grup IV de ise düştüğü görüldü. Bu sonuçlar; grup I & grup II($p=0,080$), grupII & grup III($p=0,107$), grup II & grup IV($p=0,069$), grup III & grup IV ($p=0,828$), grup I & grup V($p=0,591$) ve grup II & grup V($p=0,220$) olarak saptandı.

Gruplar 48. saatteki böbrek katalaz değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırdıklarında; grup I ve grup II ,III ve IV arasında katalaz değerlerinin yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II, III ve IV de katalaz değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu sonuçlar; grup I & grup II($p=0,079$), grupII & grup III($p=0,468$), grup II & grup IV($p=0,566$), grup III & grup IV ($p=0,879$), grup I & grup V($p=0,025$) ve grup II & grup V($p=0,607$) olarak saptandı.

Gruplar 24 ve 48. Saat böbrek doku katalaz değerleri açısından kendi aralarında karşılaştırdıklarında; grup III ve grup IV de anlamlı istatistiksel farklılık saptandı($p=0,017,p=0,014$). Diğer gruplarda ise anlamlı istatistiksel farklılık saptanmadı($p>0,005$). 48. Saatte böbrek doku katalaz düzeyinin grup III ve IV de anlamlı olarak arttığı izlendi.

TNF- α : TNF- α iskemik renal hasarda, makrofaj, lökosit ve renal tübüler hücreler tarafından sekrete edilir. TNF- α glomerüler kan akımını, glomerüler filtrasyon hızını azaltır; glomerüler albümin permeabilitesini artırır; serbest oksijen radikali, IL-1 gibi endojen pirojen ve diğer proinflatuar sitokinlerin üretimini stimüle eder; nötrofil ve monosit (recruitment) infiltrasyonunu artırır; ICAM-1 ve L-selektin ekspresyonunu artırır; hücrel apoptosisi indükler; glomerüler fibrin depozisyonunu artırır(112). Renal TNF- α üretimi için 30 dakikalık iskemi yeterli olmakla birlikte TNF- α proteininin ekspresyonu ve biyoaktivitesi 1 saatlik iskemi ve bunu takip eden 2 saatlik reperfüzyonda tepe yapmaktadır(113,114).

Bizim çalışmamızda Gruplar 24. saatteki serum TNF- α değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırdıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında TNF- α değerlerinin yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II,III,IV de TNF- α değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu yükseklik; grup I & grup II(p=0,897), grupII &grup III(p=0,378), grup II & grup IV(p=0,228), grup III & grup IV (p=0,742), grup I & grup V(p=0,455) ve grup II & grup V(p=0,381) olarak saptandı.

Gruplar 48. saatteki serum TNF- α değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırdıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında TNF- α değerlerinin grup II ve III de azalırken, grup IV de yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II,III de değerler düşerken grup IV de TNF- α değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu sonuçlar; grup I & grup II(p=0,022), grupII &grup III(p=0,169), grup II & grup IV(p=0,001), grup III & grup IV (p=0,054), grup I & grup V(p=0,101) ve grup II & grup V(p=0,497) olarak saptandı.

MDA:

Mark ve ark.(115) ratlarda yaptıkları bir çalışmada, renal iskemide MDA artışının, reperfüzyonla daha da arttığını göstermişlerdir. ROR; iske miyle hücrel hasar oluştuğuzaman, hücre membranındaki poliansatüre lipidlerin peroksidasyonu sonucu membrandakigeçirgenliği bozar. Aynı şekilde hücre içindeki mitokondri ve lizozomal membranlarındaoksidatif hasar oluşup mitokondrial membranda onarımı olmayan fosforilizasyon

velizozomal membranda geçirgenlik artışına bağlı hidrolitik enzimlerle hücre yıkımı meydana getirir. Tübüler hücrelerde de aynı olaylar olurken, tübüler transportta bozulur. 1980'li yıllardan beri oksidatif doku hasarının göstergesi olarak, serum ve doku MDA değerlerine bakılmakta olduğunu belirten Singh ve Chopra (116) ratlarda yaptıkları renal İ/R'de renal oksidatif doku hasarının göstergesi olarak doku MDA düzeylerine bakmışlardır.

Bizim çalışmamızda, Gruplar 24. saatteki böbrek doku MDA değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında MDA değerlerinin düştüğü saptandı. Grup I e göre grup II,III,IV de MDA değerlerinin düştüğü görüldü. Bu düşüş; grup I & grup II (p=0,000), grup II & grup III (p=0,000), grup II & grup IV (p=0,001), grup III & grup IV (p=0,157), grup I & grup V (p=0,000) ve grup II & grup V (p=0,000) olarak saptandı. Gruplar 48. saatteki böbrek doku MDA değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında MDA değerlerinin düştüğü saptandı. Grup I e göre grup II,III,IV de MDA değerlerinin düştüğü görüldü. Bu düşüş; grup I & grup II (p=0,000), grup II & grup III (p=0,846), grup II & grup IV (p=0,659), grup III & grup IV (p=0,525), grup I & grup V (p=0,000) ve grup II & grup V (p=0,000) olarak saptandı. Tüm gruplarda böbrek doku MDA düzeyinin belirgin derecede düştüğü izlendi.

Gruplar 24. saatteki serum MDA değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında MDA değerlerinin, grup 4 hariç, yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II,III de MDA değerlerinin yükseldiği, grup IV de ise düştüğü görüldü. Bu sonuçlar; grup I & grup II (p=0,022), grup II & grup III (p=0,204), grup II & grup IV (p=0,002), grup III & grup IV (p=0,063), grup I & grup V (p=0,212) ve grup II & grup V (p=0,352) olarak saptandı.

Gruplar 48. saatteki serum MDA değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında MDA değerlerinin, grup II hariç, düştüğü saptandı. Grup I e göre grup III ve IV de MDA değerlerinin düştüğü, grup II de ise yükseldiği görüldü. Bu sonuçlar; grup I & grup II (p=0,000), grup II & grup III (p=0,000), grup II & grup

IV(p=0,000), grup III & grup IV (p=0,685), grup I & grup V(p=0,058) ve grup II & grup V(p=0,000) olarak saptandı.

MPO: Çalışmamızda nötrofil infiltrasyon ve aktivasyon parametresi olan MPO verilerine bakıldı. Post-iskemik durumda PMNL'de içerdikleri MPO enzimi ile İ/R hasarında rolü olan SOR'un oluşumuna neden olmaktadır(109).

Bizim çalışmamızda Gruplar 24. saatteki serum MPO değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında MPO değerlerinin yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II,III,IV de MPO değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu yükseklik; grup I & grup II(p=0,006), grupII & grup III(p=0,871), grup II & grup IV(p=0,867), grup III & grup IV (p=0,742), grup I & grup V(p=0,025) ve grup II & grup V(p=0,938) olarak saptandı.

Gruplar 48. saatteki serum MPO değerleri açısından birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; grup I ve grup II,III,IV arasında MPO değerlerinin yükseldiği saptandı. Grup I e göre grup II,III,IV de MPO değerlerinin yükseldiği görüldü. Bu yükseklik; grup I & grup II(p=0,004), grupII & grup III(p=0,164), grup II & grup IV(p=0,828), grup III & grup IV (p=0,239), grup I & grup V(p=0,074) ve grup II & grup V(p=0,262) olarak saptandı.

5.1. Histopatoloji

Literatürde histopatolojik incelemede böbrekte I/R hasarı sonrası tübüler atrofi, tübüler lümen çap artışı, tübüler hyalinizasyon, reaktif atipi, fırçamsı kenar kaybı, hücresel şişme, nukleus deformasyonu, lökosit infiltrasyonu gibi parametrelerin kullanıldığı görülmektedir. Bizim çalışmamızda tübüler nekroz, tübül lümen dilastasyonu, tübül hücre vakuolizasyonu, intratübüler silendirler, tübüler hücre nekrozu ve interstisyel fibrozis seviyelerinin belirlenmesi planlanmıştır.

Böbrek dokusu histopatolojik olarak incelendiğinde Grup I'e ait doku örneklerinde, böbrek tübül ve glomerül yapısının normal görünümde olduğu ve herhangi bir hasarın olmadığı görüldü. Grup II de önemli derecede

glomerulus ve bowman kapsülünde değişim ve kapsül aralığında genişleme ayrıca tübüllerde fırçamsı kenar kaybı, tübüller arası kanamalar tespit edildi. Tübül hücrelerinde şişme ve buna bağlı olarak tübüller içerisinde sıvı birikimi ve hücre döküntülerinin oluşturduğu tübüller deformasyon görüldü. Gruplar arasında yapılan karşılaştırılmada incelenen parametrelerin grup II e kıyasla diğer bütün gruplarda istatistiki olarak anlamlı farklılık saptandı($p < 0,005$). 24. Saat; konjesyon($p=0,024$), vakuolizasyon($p=0,635$), nekroz($p=0,434$), silendir($0,024$). 48.Saat konjesyon($p=0,642$), vakuolizasyon($p=0,364$), nekroz($p=0,023$), silendir($0,012$). Her ne kadar uzak ve lokal iskemik sonkoşullanma uygulanmasıyla, kontrol ve iskemik sonkoşullanma grupları arasında 24. Saat vakualizasyon ve nekroz yönünden fark oluşmuyorsa da ($p=0,0,635$, $p=0,434$), sham grubuyla iskemik koşullanma grupları arasında da anlamlı farkın bulunmaması iskemik sonkoşullanma gruplarının histopatolojik düzeyde iskemi kadar zarar vermediği anlamında yorumlanabilir. Bu sonuçlara göre, bireylerin Konjesyon, Silendir, Vakuolizasyon ve Nekroz açısından 24.saat ve 48.saat değerleri arasında istatistiksel açıdan farklılık saptanmadı (Standard MH Statistic=-0,00, $p=1,00$).

Renal İ/R hasarı ile ilgili çalışmalarındaki histolojik değerlendirmeler i/R'den sonra böbrek tübül hücrelerinde vakuolizasyon, tübüller dilatasyon, nekroz alanları, hücreler arası kanama gibi bulgular rapor edilmiştir(118). Bu da bizim histolojik verilerimizle uyumludur.

5.2. Elektron Mikroskopisi

Araştırmalarımıza rağmen İskemik uzak organ sonkoşullanmanın etkilerini değerlendiren herhangi bir elektron mikroskopisi çalışmasına rastlamadık. Böbrek iskemi elektron mikroskopisi bulgularını değerlendiren bir çalışmada Shimizu ve arkadaşları 60 dakikalık reanl iskemiden sonra 6 ay takip ettikleri ratlarda, elektron mikroskopik incelemede en fazla hasarın 24 saatlik reperfüzyon sonrasında görüldüğünü bildirmişlerdir(119). Çalışmamızda bu çalışmada belirtilen kriterler baz alınmıştır.

Çalışmamızda grup III ve grup IV de glomerüllerin volüm olarak normale daha yakın olduğu bowman kapsülünde visseral ve parietal yapraklar arasındaki mesafenin normale daha yakın olduğu izlendi.

Sonkoşullanma uygulanan gruplarda bazal membranlarda düzensizleşme ve ondülasyonun diğer gruplara göre daha hafif olduğu izlendi. Yine bu gruplarda kontrol grubuna göre tübüler epitel hücrelerinin normal yapı gösterdiği izlenmiştir. Görüntüleme alanı içerisinde farklı dejenerasyon aşamalarındaki hücrelerde sık olmamakla beraber ilgili gruplarda izlenmiştir.

Önceki yapılan çalışmalarla (Ates, E 2002) uyumlu olarak son koşullanma uygulanan gruplarda hücre bütünlüğünün ve organellerin normal yapı ve dağılımında olduğu izlendi. 24 ve 48. Saat bulguları gruplar ve kendi aralarında karşılaştırıldığında iskemik sonkoşullanma uygulanan gruplarda tübüleri döşeyen hücrelerin ve glomerüler hücre anatomisinin diğer gruplara oranla belirgin bir şekilde korunmuş olduğu izlendi. 48. Saat sonuçları göz önüne alındığında kontrol grubunda glomerüler yapıların ve tübüler yapıların tamamen dejenere olduğu izlenirken diğer gruplarda bu yapıların büyük oranda korunduğu tespit edildi.

Farmakolojik son koşullanma:

İskemiye bağlı akut böbrek yetersizliği; renal vazokonstriksiyon, tübüler hasar, glomerüler filtrasyon yetersizliği ve glomerüler hasardan oluşan kompleks bir sendromdur . İskemi reperfüzyon hasarını oluşturan mekanizmalar üzerinde etkili olabileceği düşünülen çeşitli ilaçlar profilaksizde (farmakolojik ön koşullama) ve tedavide (farmakolojik ard koşullama) kullanılmıştır (121,122,123). Fujii ve ark. (92.0) yaptıkları çalışmada; böbrek İR hasarı üzerine L-karnozinin etkilerini araştırmışlar ve L-karnozinle farmakolojik ön koşullama yapılan ratlarda hasarın belirgin olarak önlendiğini bildirmişlerdir.

Bizde çalışmamızda son koşullanma için statinlerden biri olan pravastatini kullandık. Statinlerin kolesterol düşürücü etkisinden bağımsız etkileri olduğu son çalışmalarda ortaya konmuştur. Kolesterol düşüşünden bağımsız olan bu etkiler “pleiotropik etkiler” olarak isimlendirilir.

“Pleiotropik etki” olarak da adlandırılan antiinflamatuvar, antiproliferatif ve immünmodülatör özellikleri ile statinler kardiyovasküler sistemin yanı sıra diğer organ sistemleri ve pek çok hastalık için geniş spektrumda bir etki profiline sahiptir. Söz konusu etkilerin sorumlusunun HMG-KoA redüktaz inhibisyonu ile kolesterolün yanı sıra pek çok izoprenoid bileşiğin oluşumunun engellenmesi olduğu iddia edilmektedir. Bunlardan farnesil pirofosfat ve geranil pirofosfat gibi bileşikler posttranslasyonel protein izoprenilasyonu için gereklidir ve proteinlerin yaklaşık %0.5-1 kadarının bu yolla modifikasyona uğradığı bilinmektedir.

Statinlerin, antiinflamatuvar ve immünomodülatuar etkileri ile bağışıklık sistemindeki abartılmış yanıtın baskılanmasında faydalı olabileceği öne sürülmüştür. Statinlerin reseptör-li-gand etkileşimini engelleyerek sepsisi baskıladığı düşünülmektedir. Moleküler düzeyde öne sürülen mekanizma mavelonat yolağı inhibisyonundan bağımsızdır. Statinler β 2-integrin bölgesinden lökosit fonksiyon ilişkili antijene bağlanır ve böylece lenfosit fonksiyonlarına engel olur. Öte yandan, endotel disfonksiyonu üzerine olumlu etkileri ve antitrombotik özellikleri sayesinde statinler sepsis ile tetiklenen koagülopatinin baskılanmasında etkilidir. Sepsis-statin ilişkisinde bir diğer mekanizma heme oksijenaz (HO)-1 adlı indüklenebilir, sitoprotektif özellikte bir ısı şok proteininin aktivasyonudur. Statin tedavisi ile HO-1 konsantrasyonu artar. HO-1 aktivasyonu hem vasküler düz kas, hem de endotel hücrelerinde gerçekleşir ve böylece antiinflamatuvar, antiproliferatif, antioksidan etkiler ortaya çıkar(124).

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak çalışmamızda 45 dakikalık böbrek iskemi sonrası uygulanan lokal (böbrek) sonkoşullanma ve uzak(karaciğer) iskemik sonkoşullanmanın böbrekte oluşan iskemi reperfüzyon hasarını azalttığı histopatolojik olarak, ultrastrüktürel olarak ve laboratuvar bulguları ile ortaya konmuştur. Çalışmamızda daha önceki yayınlarda değerlendiriliği için çok erken dönem (1. saat) sonuçları bakılmamış ve geç dönem (1 hafta ve üzeri) sonuçları değerlendirilememiştir. Ancak iskemi ve reperfüzyona bağlı hasarın yoğun olarak izlendiği ilk 48 saat ayrıntılı parametrelerle incelenmiş olup elde edilen sonuçlar iskemi reperfüzyon hasarını engellemede klinik uygulamalar için yol gösterici olduğu ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

1. Herbert KJ, Hickey MJ, Lepore DA, Knight KR, Morrison WA, Stewart AG. Effects of the endothelin receptor antagonist Bosentan on ischaemia/reperfusion injury in rat skeletal muscle. *Eur J Pharmacol*, 2001;424:59-67.
2. Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg*, 1991;78:651-5
3. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Temel patoloji. Çevikbaş U (Çeviren) 5. Baskı. İstanbul: Nobel ve Yüce, 1995.
4. Petrusek PF, Walker PM. A clinically relevant small-animal model of skeletal muscle ischemia- reperfusion injury. *J Invest Surg*, 1994; 7:27-38.
5. Olguner C, Koca U, Kar A, Karci A, Iflekel H, Canyilmaz M, Mavioğlu O, Kizildağ S, Unlü G, Elar Z. Ischemic preconditioning attenuates the lipid peroxidation and remote lung injury in the rat model of unilateral lower limb ischemia reperfusion. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2006; 50:150-5.
6. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *J Biochem*, 1984; 222:1-15. Delabar JM, Nicole A, D'Auriol L, Jacob Y, Meunier-Rotival M, Galibert F, Sinet PM, Jérôme H. Cloning and sequencing of a rat CuZn Superoxide dismutase Cdna. *Eur J Biochem*, 1987; 166: 181-7.
7. Hernandez LA, Grisham MB, Twohig B, Arfors KE, Harlan JM, Granger DN. Role of neutrophils in ischemia-reperfusion-induced microvascular injury. *Am J Physiol*, 1987; 253(3 Pt 2): 699-703.
8. Çağlayan O, Çağlayan F, Günel E, İntestinal iskemi-reperfüzyonun doku çinko düzeyine etkisi. *Genel Tıp Dergisi*. 1998; 8:9.
9. Van den Heuvel MGW, Buurman WA, Bast A. Review: ischemia-reperfusion injury in flap surgery. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2009; 62:721.
10. Manson PN, Anthenelli RM, Im MJ, Bulkley GB, HoopesJE. The role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg*, 1983; 198:87-90.

11. Morris SF, Pang CY, Zhong A, Boyd B, Forrest CR. Assessment of ischemia-induced reperfusion injury in the pig latissimus dorsi myocutaneous flap model. *Plast Reconstr Surg*, 1993; 92:1162-72.
12. Kandilci HB, Gümüşel B. Akciğerlerde iskemi-reperfüzyon hasarı ve iskemik önkoşullanma. *Hacettepe Üniversitesi. Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 2005; 25:35.
13. İşlekel H, İşlekel S, Güner G. Biochemical Mechanism and Tissue Injury of Cerebral Ischemia and Reperfusion Part II: Tissue Injury. *Journal of Neurological Sciences (Turkish). Norol Bil D*, 2000; 17:2.
14. Mitchell RN, Cotran RS (Çeviri: U. Çevikbaş). Hücre zedelenmesi, ölümü ve adaptasyonu. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (Eds.). *Temel patoloji*'de. 6. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi (WB Saunders Co), 2000; 3-24.
15. Majno G. Apoptosis, oncosis and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol*, 1995; 146: 3-15.
16. Sastry PS, Subba KR. Apoptosis and the Nervous System. *J Neurochem*, 2000; 74:1-20.
17. Nagano T, Yamamoto K, Matsumoto S, Okamoto R, Tagashira M, Ibuki N, Matsumura MK, Yabushita K, Okano N, Tsuji T. Cytokine profile in the liver of primary biliary cirrhosis. *J Clin Immunol*, 1999; 19:422-7.
18. Türkyılmaz Z. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Zedelenmesinde Pentoksifilin, Dimetilsülfoksit ve Eksojen Melatoninin Koruyucu Etkilerinin Karşılaştırılması (tez). Edirne: TÜ Tıp Fak, 2003.
19. Chamoun F, Burne M, O' Donnell M, Rabb H. Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. *Front Biosci*, 2000; 5:103-9.
20. Schoenberg MH, Beger HG. Oxygen radicals in intestinal ischemia and reperfusion. *Chem Biol Interact*, 1990; 76 (2):141-61.
21. Schoenberg MH, Fredholm BB, Haglund U, Jung H, Sellin D, Younes M, Schildberg FW. Studies on the oxygen radical mechanism involved in the small intestinal reperfusion damage. *Acta Physiol Scand*, 1985; 124(4): 581-9.

22. Weight S.C., Furness P.N., Nicholson M.L.: Biphasic role for nitric oxide in experimental renal warm ischemia-reperfusion injury. *Br. J. Surg* 1999; 86: 1039-1046.
23. Guyton AC. The kidneys and body fluids. In: Guyton AC (eds). *Textbook of Medical Physiology*. WB Saunders Company, Philadelphia 1991; pp 273-353.
24. Pompermayer K, Souza DG, Lara GG et al.: The ATP-sensitive potassium channel blocker glibenclamide prevents renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Kidney Int.* 2005; 67: 1785–1796.
25. 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.
26. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA. Ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 2002; 105 (2): 248-58.
27. Clarke PG. Developmental cell death: Morphological diversity and multiple mechanisms. *Anat Embryol*, 1990; 181:195-213. Majno G. Apoptosis, oncosis and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol*, 1995; 146: 3-15. Chalmers- Redman R, Franser AD, Ju W. Mechanisms of nerve cell death: Apoptosis or necrosis after cerebral ischemia, Neuroprotective agents and cerebral ischemia. *Academia Press Lmt*, 1997; 2-25.
28. Ankarcona M, Dybukt M, Bonfoco E. Glutamate- induced neuronal death: a succession of necrosis or apoptozis depending on mitochondrial function. *Neuron*, 1995; 15:961-73.
29. Hwang WYK, Koh LP, Ng HJ, Tan PHC, Chuah CTH, Fook SC, Chow H, Tan KW. A randomized trial of amifostine as a cytoprotectant for patients receiving myeloablative therapy for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Hepatology*, 1986; 5:388-95.
30. Preisler HD, Li B, Yang R. Supression of telomerase activity and cytokine messenger RNA levels, in acute myelogenous leukemia cell in vivo in patients by amifostine and interleukin 4. *J Clin Invest*, 2001; 101:746-54.
31. Rust C, Gores GJ. Apoptosis and liver disease. *Am J Med*, 2000; 108:567-74.

32. Zimmerman BJ., Granger DN.: Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992;72(1): 65-83.
33. Baud L., Ardaillou R.: Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *Br. Med. Bull* 1993; 49 (3): 621-629.
34. Weight S.C., Bell P.R.F., Nicholson M.L.: Renal ischemia-reperfusion injury. *Br. J.Surg.*1996; 83: 162-170.,
35. Gower J., Healing G., Fuller B., Simpkin S., Green C.J.: Protection against oxidative damage in cold-stored rabbit kidneys by deferoxime and indomethacin. *Cryobiology* 1989; 26: 309-317.
36. Schiller H.J., Andreoni K.A., Bulkley G.B.: Free radical ablation for the prevention of post-ischemic renal failure following renal transplantation. *Klin Wochenschr* 1991; 69:1083-1094.
37. Davies S.J., Reichardt-Pascal S.Y., Vaughan D., Russel G.I.: Differential effect of ischemia-reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney. *Exp.Nephrol* 1995; 3: 348-354.
38. Irita K., Fujita I., Takeshige K., Minakami S., Yoshitake J.: Cinchocaine and Amethocaine inhibit activation and activity of superoxide production in human neutrophils. *Br. J. Anaesth* 1986; 58: 639-645.
39. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA. Ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 2002; 105 (2): 248-58.
40. Donnahoo K.K., Meng X., Ayala A., Cain M.P., Harken A.H., Meldrum D.R.: Early kidney TNF- α expression mediates neutrophil infiltration and injury after renal ischemia-reperfusion. *Am. J. Physiol* 1999; 277 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 46): 922-929.
41. Homer Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 1997;14:195-203.
42. Küçükakın B, Gögenur I, Rosenberg J. Melatonin against surgical stress. *Ugeskr Laeger*, 2007; 169 (14):1306-8.
43. Aydıner ÇY, Pul M, İnan M, Bilgi S, Çakır E. Deneysel testiküler torsiyon modelinde N-asetilsistein doku hasarını önlemede rol oynayabilir mi? *Cumhuriyet Tıp Derg*, 2012; 34:462-71.

44. Taşkiran A. Koroner By-Pass Yapılan Olgularda Lipid Hidroperoksit, Antioksidan Kapasite ve Oksidan Strese Duyarlılık (tez). Edirne: TÜ Tıp Fak, 2002.
45. Ischaemic preconditioning is not dependent on neutrophils or glycolytic substrate at reperfusion in rabbit heart. Liu GS, Stanley AW, Downey JM. *Cardiovasc Res.* 1992 Dec;26(12):1195-8.
46. Prevention of ischemic preconditioning only by combined inhibition of protein kinase C and protein tyrosine kinase in pigs. Vahlhaus C, Schulz R, Post H, Rose J, Heusch G. *J Mol Cell Cardiol.* 1998 Feb;30(2):197-209.
47. The pathophysiology of ischaemic preconditioning. Jenkins DP, Baxter GF, Yellon DM. *Pharmacol Res.* 1995 Mar-Apr;31(3-4):219-24. Review
48. The nitric oxide hypothesis of late preconditioning. Bolli R, Dawn B, Tang XL, Qiu Y, Ping P, Xuan YT, Jones WK, Takano H, Guo Y, Zhang J. *Basic Res Cardiol.* 1998 Oct;93(5):325-38. Review.
49. Does ischemic preconditioning in the human involve protein kinase C and the ATP-dependent K⁺ channel? Studies of contractile function after simulated ischemia in an atrial in vitro model. Speechly-Dick ME¹, Grover GJ, Yellon DM.
50. Preconditioning cultured human pediatric myocytes requires adenosine and protein kinase C. Ikonomidis JS, Shirai T, Weisel RD, Derylo B, Rao V, Whiteside CI, Mickle DA, Li RK. *Am J Physiol.* 1997 Mar;272(3 Pt 2):H1220-30.
51. Zhao Z-Q, Corvera JS, Wang N-P, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Reduction in infarct size and preservation of endothelial function by ischemic postconditioning: comparison with ischemic preconditioning. *Circulation* 2002;106:II314
52. Zhao Z-Q, Corvera JS, Halkos ME, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 2003; 285:579– 88.
53. Kai Sun, Zhi-Su Liu, Quan Sun. Role of mitochondria in cell apoptosis during hepatic ischemia-reperfusion injury and protective effect of ischemic postconditioning. *World J Gastroenterol* 2004;10(13):1934-1938.

54. Zhao Z-Q, Vinten-Johansen J. Postconditioning: Reduction of reperfusion-induced injury . Cardiovas Res 2006;70:200-211
55. Yang X-M, Proctor JB, Cui L, Krieg T, Downey JM, Cohen MV (2004) Multiple, brief coronary occlusions during early reperfusion protect rabbit hearts by targeting cell signal pathways. J Am Coll Cardiol 44:1103–1110
56. Tsang A, Hausenloy DJ, Mocanu MM, Yellon DM (2004) Postconditioning: A form of “modified reperfusion” protects the myocardium by activating the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway. Circ Res 95:230–232
57. Deneysel hepatic iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde iskemik son kosullama ve etkinligi dr. bak_ aydogan.tez 2006
58. Istvan ES, Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG- CoA reductase. Science 2001; 292:1160-4.
59. Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES study). Am J Cardiol 1998; 81: 582–7.
60. Statinlerin Pleotropik Etkileri Pleiotropic Effects of Statins Saadet Demirtas
- M B Vatan, M Akif Çakar, Sakarya Egitim ve Arastırma Hastanesi
61. pleiotropic effects of hmg-coa reductase inhibitors. ali murat irat, aslı ceylan ışık Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı
62. Pleiotropic effects of statins: basic research and clinical perspectives Qian Zhou, MD and James K. Liao, MD Vascular Medicine Research Unit, Brigham and Women’s Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, USA
63. Zhou Q, Liao JK. Statins and cardiovascular diseases: from cholesterol lowering to pleiotropy. Curr Pharm Des. 2009; 15:467–478.

64. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med.* 2000; 6:1399–1402. [PubMed: 11100127]
65. Wassmann S, Laufs U, Baumer AT, Muller K, Konkol C, Sauer H, Bohm M, Nickenig G. Inhibition of geranylgeranylation reduces angiotensin II-mediated free radical production in vascular smooth muscle cells: involvement of angiotensin AT1 receptor expression and Rac1 GTPase. *Mol Pharmacol.* 2001; 59:646–654. [PubMed: 11179461]
66. Hinman FJ. Development of the kidney, ureter and adrenal gland. In: Hinman FJ (eds). *Atlas of urosurgical anatomy.* WB Saunders Company, Philadelphia 1996; pp
67. Tisher CC, Madsen KM. Anatomy of the kidney. In: Brenner BM (eds). *The Kidney.* WB Saunders Company, Philadelphia 1996; pp 3-72
68. Guyton AC. The kidneys and body fluids. In: Guyton AC (eds). *Textbook of Medical Physiology.* WB Saunders Company, Philadelphia 1991; pp 273-353.
69. Brady HR, Brenner BM: Acute Renal Failure: Harrison's Principles of Internal Medicine. Ondördüncü baskı. Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL (ed). *The McGraw-Hill Companies USA* 1998, S. 1504-1513
70. Bonventre JV, Weinberg JM: Recent Advances in the Pathophysiology of Ischemic Acute Renal Failure. *J Am Soc Nephrol* 14: 2199-2210, 2003
71. Montalvo-Jave, EE., Escalante-Tattersfield, T., Ortega-Salgado, J.A., Piña, E., Geller, D.A., 2008, Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury, *J Surg Res*, 147, 153-159.
72. Aydoğdu, N., Kaymak, K., Yalcin, Ö., 2005, Sıçanlarda Böbrek iskemisi/Reperfüzyon Hasarında N-asetilsisteinin Etkileri, *Fırat Tıp Dergisi*, 10, 151-155.
73. Zerrin Bicik, Sibel Ersan. Acute böbrek failure. *Office Journal of The Turkish Nephrology, association.* 1999;3:113-

74. Brady H.R, Brenner B.M. Acute Renal Failure. In Issel baher, Braunwald, Wilson et all. Harison's Principlesof Internal Medicine 1997.pp.1265-74
75. Schena F.P. Role of growth factors in acute Renal failure, *Kidney Int.* 1998;53(66):11-5.
76. Orvieto MA, Zorn KC, Mendiola FP, Gong EM, Lucioni A, Mikhail AA, et al. Ischemia preconditioning does not confer resilience to warm ischemia in a solitary porcine kidney model. *Urology* 2007;69:984-7.
77. Pasupathy S, Homer-Vanniasinkam S. Ischaemic preconditioning protects against ischaemia/reperfusion injury: emerging concepts. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery* 2005;29:106-15.
78. Wall J. Antioxidants In Prevention Of Reperfusion Damage Of Vascular Endothelium.*Cardiovasc Surg* 2000;1:67-70.
79. Pecking AP, Fevrier B, Wargon C, Pillion G.Efficacy of Daflon 500 mg in the Treatment of Lymphedema (secondary to conventional therapy of breast cancer). *Angiology* 1997;48:93.
80. Ozcan AV, Sacar M, Aybek H, Bir F, Demir S, Onem G. The Effects of Iloprost and Vitamin C on Kidney as a Remote Organ After Ischemia/Reperfusion of Lower Extremities. *Jour of Surg Res* 2007;140:20–6.
81. Costanzo LS. Renal functions. In:Winghager EE, Ellison DH (Eds .). *Physiology*.5th ed. NewYork: McGraw-Hill; 2003.p.182-93.
82. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986;74:1124–1136.
83. *Undersea Hyperb Med.* 2015 Jan-Feb;42(1):49-56.Pravastatin protects hyperbaric hyperoxia-induced lung injury via inhibiting inflammation in mice. Chen H, Zheng J, Cai Z, Peng Z, Li R, Xu W, Cao D, Liu W, Lin F.
84. Trimetazidine prevents renal injury in the isolated perfused pig kidney exposed to prolonged cold ischemia.**Hauet T, Mothes D, Goujon JM, Caritez JC, Carretier M, le Moyec L, Eugene M, Tillement JP.***Transplantation.* **1997** Oct 15;64(7):1082-6.

85. Ates, E, Genç E, Erkasap N, et al. Renal protection by brief liver ischemia in rats. *Transplantation* 2002;74:1247–51.
86. Ren C, Gao M, Dornbos D, Ding Y, Zeng X, Luo Y, Ji X. Remote ischemic post-conditioning reduced brain damage in experimental ischemia/reperfusion injury. *Neurol Res.* 2011;33:514–519.
87. Pignataro G, Cuomo O, Vinciguerra A, Sirabella R, Esposito E, Boscia F, Di Renzo G, Annunziato L. NCX as a key player in the neuroprotection exerted by ischemic preconditioning and postconditioning. *Adv Exp Med Biol.* 2013;961:223–240.
88. Li CM, Zhang XH, Ma XJ, Luo M. Limb ischemic postconditioning protects myocardium from ischemia-reperfusion injury. *Scand Cardiovasc J.* 2006;40:312–317.
89. Ren C, Yan Z, Wei D, Gao X, Chen X, Zhao H. Limb remote ischemic postconditioning protects against focal ischemia in rats. *Brain Res.* 2009;1288:88–94.
90. Remote ischemic postconditioning protects against gastric mucosal lesions in rats Tao Wang, Ye-Ting Zhou, Xin-Nian Chen, An-Xiang Zhu, Bo-Hua Wu *World J Gastroenterol* 2014 July 28; 20(28): 9519-9527 ISSN 1007-9327 (print) ISSN 2219-2840
91. Renoprotective Effect of Remote Ischemic Post-Conditioning by Intermittent Balloon Inflations in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention Spyridon Deftereos, MD,* Georgios Giannopoulos, MD,*† Vasileios Tzalamouras, MD,* Vol. 61, No. 19, 2013 © 2013 by the American College of Cardiology Foundation ISSN 0735-1097/\$36.00 Published by Elsevier Inc.
92. Przyklenk, K., Bauer, B., Ovize, M., Kloner, R. A., and Whittaker, P. (1993). Regional ischemic “preconditioning” protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation* 87, 893–899.
93. Lazaris, A. M., Maheras, A. N., Vasdekis, S. N., Karkaletsis, K. G., Charalambopoulos, A., Kakis, J. D., Martikos, G., Patapis, P., Giamarellos-Bourboulis, E. J., Karatzas, G. M., and Liakakos, T. D. (2009). Protective effect of remote ischemic preconditioning in renal ischemia/reperfusion injury, in a model of thoracoabdominal aorta approach. *J. Surg. Res.* 154, 267–273.

94. Wever, K.E., Warle, M.C., Wagener, F.A., VanDerHoorn, J.W., Masereeuw, R., VanDerVliet, J.A., and Rongen, G.A. (2011). Remote ischaemic preconditioning by brief hind limb ischaemia protects against renal ischaemia-reperfusion injury: the role of adenosine. *Nephrol. Dial. Transplant.* 26, 3108–3117.
95. Kanoria, S., Jalan, R., Seifalian, A.M., Williams, R., and Davidson, B.R. (2007). Protocols and mechanisms for remote ischemic preconditioning: a novel method for reducing ischemia reperfusion injury. *Transplantation* 84, 445–458.
96. Tapuria, N., Kumar, Y., Habib, M.M., Abu, A.M., Seifalian, A.M., and Davidson, B.R. (2008). Remote ischemic preconditioning: a novel protective method from ischemia reperfusion injury – a review. *J. Surg. Res.* 150, 304–330.
97. Boyle, E.M., Pohlman, T.H., Johnson, M.C., and Verrier, E.D. (1997). Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the systemic inflammatory response. *Ann. Thorac. Surg.* 63, 277–277.
98. Zhao, Z.Q., Nakamura, M., Wang, N. P., Velez, D.A., Hewan-Lowe, K.O., Guyton, R.A., and Vinten-Johansen, J. (2000). Dynamic progression of contractile and endothelial dysfunction and infarct extension in the late phase of reperfusion. *J. Surg. Res.* 94, 133–144.
99. Wei, M., Xin, P., Li, S., Tao, J., Li, Y., Li, J., Liu, M., Zhu, W., and Redington, A.N. (2011). Repeated remote ischemic postconditioning protects against adverse left ventricular remodeling and improves survival in a rat model of myocardial infarction. *Circ. Res.* 108, 1220–1225.
100. Shimizu, M., Saxena, P., Konstantinov, I. E., Cherepanov, V., Cheung, M. M., Wearden, P., Zhangdong, H., Schmidt, M., Downey, G.P., and Redington, A.N. (2010). Remote ischemic preconditioning decreases adhesion and selectively modifies functional responses of human neutrophils. *J. Surg. Res.* 158, 155–161.
101. Konstantinov, I.E., Arab, S., Li, J., Coles, J.G., Boscarino, C., Mori, A., Cukerman, E., Dawood, F., Cheung, M. M., Shimizu, M., Liu, P.P., and Redington, A.N. (2005a). The remote ischemic preconditioning stimulus modifies gene expression in mouse myocardium. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 130, 1326–1332.

102. Clinical Application of Preconditioning and Postconditioning to Achieve Neuroprotection Cameron Dezfulian, MD*, Matthew Garrett, MD†, and Nestor R. Gonzalez, MD† *Transl Stroke Res.* 2013 February ; 4(1): 19–24. doi:10.1007/s12975-012-0224-3.
103. Non-invasive remote limb ischemic postconditioning protects rats against focal cerebral ischemia by upregulating STAT3 and reducing apoptosis. zhigang cheng, ling li, xueying mo, lu zhang, yongqiu xie, qulian guo and yunjiao wang. Received March 22, 2014; Accepted July 24, 2014 DOI: 10.3892/ijmm.2014.1873
104. Kim et al. *Journal of Inflammation* 2014, 11:16 Effect of remote ischemic post-conditioning on systemic inflammatory response and survival rate in lipopolysaccharide-induced systemic inflammation model.
105. Protection of Liver as a Remote Organ after Renal Ischemia-Reperfusion Injury by Renal Ischemic Postconditioning Behjat Seifi,¹ Mehri Kadkhodaei,¹ Atefeh Najafi,² and Atefeh Mahmoudi¹ Hindawi Publishing Corporation *International Journal of Nephrology* Volume 2014, Article ID 120391
106. Place of Mitochondrial Potassium-ATP Channels in The Mechanism of Effect of Ischemic Conditionings *J Clin Anal Med* 2012;3(3): 370-3 Author: İlker Şengül,
107. Williams P, Lopez H., Britt D., Chan C. Characterization of Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 1997;37:1-7.
108. Bozkurt Y, Fırat U, Murat A ve ark. The Protective Effect of Ellagic Acid Against Renal Ischemia – Reperfusion Injury in Male Rats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2012 18 (5) : 823-828.
109. Cochrane J, Williams B. T., Banerjee A. ve ark. Ischemic Preconditioning Attenuates Functional, Metabolic, and Morphologic Injury from Ischemic Acute Renal Failure in the Rat *Renal Failure* 1999, 21(2), 135-45.
110. Avlan D, Tamer L, Ayaz L, Polat A, Öztürk C, Özturhan H. Effects of trapidil on renal ischemia-reperfusion injury. *J Pediatr Surg* 2006;41:1686–93.

111. Altıntaş, A., Bilgili, A., 1992, Melez köpeklerde kan ve idrarda üre, Kreatinin, Na ve Knormal düzeyleri ile yaş, cinsiyet ve ağırlığın etkisi. 100.Yıl Üniv.Vet.Fak.Derg,3, 1-2.
112. Donahoo KK, Shames BD, Harken AH, Meldrum DR: Review article: The role of tumor necrosis factor in renal ischemia-reperfusion injury. J Urol 162: 196-203, 1999
113. Donnahoo KK, Meldrum DR, Shenkar R, Chung CS, Abraham E, Harken AH: Early renal ischemia, with or without reperfusion, activates NFkB and increases TNF- α bioactivity in the kidney. J Urol 163: 1328-1332, 2000
114. Donnahoo KK, Meng X, Ao L, Ayala A, Shames BD, Cain MP, Harken AH:Differential cellular immunolocalization of renal tumor necrosis factor- α production during ischemia versus endotxaemia. Immunology 102: 53-58, 2001
115. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen Free Radicals in Ischemic Acute Renal Failure in the Rat. J Clin. Invest 1984;1156-64.
116. Singh D, Chopra K. Effect of trimetazidine on renal ischemia/reperfusion injury in rats. Pharmacological Research 2004;50 :623-9.
117. Grisham, M.B., Hernandez, C.A., Granger N., 1986, Xanthine Oxidase and Neutrophil Infiltration in Intestinal Ischemia. Am J Physiol, 251, 567-574.
118. Ozan, E., Koyutürk, L., Sapmaz, T., 2004, Böbrek Ėskemi-Reperfüzyon Hasarında Antioksidan Olarak Prostaglandin E1 (PGE1) Kullanımının Ėncelenmesi:Deneysel Çalışma, Fırat Tıp Dergisi, 9, 67-71.
119. Apoptosis and cell desquamation in repair process of ischemic tubular necrosis.Shimizu A, Yamanaka N. Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol. 1993;64(3):171-80.
120. Undersea Hyperb Med. 2015 Jan-Feb;42(1):49-56.Pravastatin protects hyperbaric hyperoxia-induced lung injury via inhibiting inflammation in mice. Chen H, Zheng J, Cai Z, Peng Z, Li R, Xu W, Cao D, Liu W, Lin F.

121. Fujii T, Takaoka M, Muraoka T. Preventive effect of L-carnosine on ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in rats. *Eur J Pharmacol* 2003;74: 261-7.
122. Hoffman WE, Kochs E, Werner C, Thomas C ve ark. Deksmetomidine improves neurologic outcome from incomplete ischemia in the rat. Reversal by the alpha 2-adrenergic antagonist atipamezole. *Anesthesiology* 1991; 75: 328–32.
123. Smyrnoitis V, Arkadopoulos N, Kostopanagiotou G. Attenuation of ischemic injury by N-acetylcysteine preconditioning of the liver *J Surgery Res* 2005 Nov; 129 :31-7.
124. Pleiotropic effects of statins: basic research and clinical Perspectives Qian Zhou, MD and James K. Liao, MD *Circ J.* 2010 May ; 74(5): 818–826.

