

T.C.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**AORT CERRAHİSİNDE İSKEMİ REPERFÜZYONA BAĞLI
GELİŞEN BÖBREK HASARINDA RESVERATROLÜN ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Arş. Grv. DR. NAİM EREN

DANIŞMAN:

DOÇ.DR. CEVDET UĞUR KOÇOĞULLARI

AFYONKARAHİSAR 2010

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KALP ve DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Tez Başlığı : Aort cerrahisinde iskemi reperfüzyona bağlı gelişen böbrek hasarında resveratrol'ün etkisi
Tezi Hazırlayan : Dr. Naim EREN
Tez Kabul Tarihi : 14.06.2010
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Cevdet Uğur KOÇOĞULLARI

İş bu çalışma jürimiz tarafından KALP ve DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI' nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Ahmet ÇEKİRDEKÇİ

Üye

Üye

Doç. Dr. Cevdet Uğur KOÇOĞULLARI

Yrd. Doç. Dr. Mustafa EMMİLER

ONAY

DEKAN V.

Prof. Dr. Necat İMİRZALIOĞLU

TEŐEKKÜR

Kalp ve Damar Cerrahisi uzmanlık eğitimim sırasında bilgi ve tecrübeleriyle bana destek ve yol gösterici olan Prof. Dr. Ahmet ÇEKİRDEKÇİ'ye, Doç. Dr. Cevdet Uğur KOÇOĞULLARI'na ve Yrd. Doç. Dr. Mustafa EMMİLER'e

Tez çalışmamın planlama ve uygulaması süresinde yardımlarını esirgemeyen, bilgiye ve kaynaklara ulaşmamda teşvik edici, yol gösterici olan tez danışmanım Doç. Dr. Cevdet Uğur KOÇOĞULLARI'na, histopatolojik incelemeleri gerçekleştiren Prof. Dr. Fatma AKTEPE'ye, biyokimyasal incelemeleri gerçekleştiren Prof. Dr. Tülay KÖKEN ve Arş. Grv. Halit Buğra KOCA'ya, verilerin istatistiksel analiz ve yorumlanmasındaki katkılarından dolayı Doç. Dr. Reha DEMİREL'e

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalıştığım değerli Kalp ve Damar Cerrahisi araştırma görevlisi meslektaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ.....	1
II. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İSKEMİ.....	3
2.1.1. REVERSİBLE ZEDELLENME	3
2.1.2. İRREVERSİBLE ZEDELLENME	5
2.2. REPERFÜZYON ve REPERFÜZYON HASARI	6
2.3. SERBEST RADİKALLER.....	7
2.3.1.. SÜPEROKSİT(O_2^-) , HİDROJEN PEROKSİT (H_2O_2).....	8
2.3.2. HİDROKSİL (OH^-), FENTON ve HABER-WEİSS REAKSİYONLARI	8
2.3.3 HİPOKLORİK ASİT ($HOCl$).....	9
2.3.4 SİNGLET OKSİJEN ($^{\circ}O_2$)	9
2.4 DOKULARDA SERBEST RADİKAL KAYNAKLARI	10
2.4.1.ENDOJEN KAYNAKLAR	10
2.4.2. EKSOJEN KAYNAKLAR.....	10
2.5 SERBEST RADİKALLERİN DOKULARA ETKİLERİ	10
2.5.1. SERBEST RADİKALLERİN LİPİDLER ÜZERİNE ETKİLERİ..	10
2.5.2. SERBEST RADİKALLERİN PROTEİNLER ÜZERİNE ETKİLERİ.....	13
2.5.3 SERBEST RADİKALLERİN NÜKLEİK ASİTLER VE DNA ÜZERİNE ETKİLERİ	13
2.6 İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA ROL ALAN MEKANİZMALAR.....	14

2.6.1. Ca ²⁺	14
2.6.2 KSANTİN OKSİDAZ	16
2.6.3 PMNL AKTİVASYONU	17
2.6.4 ARAŞİDONİK ASİT METABOLİTLERİ (PGI ₂ , TxA ₂ , LTB ₄).....	18
2.6.5 NİTRİK OKSİT (NO).....	18
2.6.6 ENDOTELİN	19
2.6.7 TROMBOSİT AKTİVE EDİCİ FAKTÖR (PAF).....	19
2.6.8 KOMPLEMANLAR.....	20
2.6.9 SİTOKİNLER	20
2.6.10 KATEKOLAMİNLERİN OKSİDASYONU	20
2.7 ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ.....	20
2.7.1. SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (SOD)	22
2.7.2 GLUTATYON	22
2.7.2.1. GLUTATYON PEROKSİDAZ (GSHpx)	23
2.7.2.2. GLUTATYON REDÜKTAZ	23
2.7.3. KATALAZ (KAT).....	23
2.8. AORT KROS-KLEMPİN SİSTEMİK ETKİLERİ	24
2.8.1. AKK'NİN BÖBREK FONKSİYONLARINA ETKİSİ	27
2.9. RESVERATROL.....	32
2.9.1. RESVERATROL'ÜN BİYOSENTEZİ.....	33
2.9.2. RESVERATROL'ÜN EMİLİMİ.....	33
2.9.3. RESVERATROL'ÜN DOKULARA TAŞINMASI.....	33
2.9.4. RESVERATROL'ÜN ATILIMI	34
2.9.5. RESVERATROL'ÜN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ	34

2.9.5.1. Antioksidan Aktivite.....	34
2.9.5.2. Trombosit Agregasyonunun İnhibisyonu	35
2.9.5.3. Östrojenik Aktivite.....	35
2.9.5.4. Anti-Kanser Aktivite.....	36
2.9.5.5. Vazorelaksan Aktivite.....	36
2.9.5.6. Anti-inflamatuvar Aktivite.....	37
2.9.5.7. Anti-apoptotik Aktivite.....	37
III. GEREÇ VE YÖNTEM.....	38
3.1. ANESTEZİ ve CERRAHİ YAKLAŞIM.....	39
3.2. DOKU ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI.....	42
3.3. PLAZMA-ERİTROSİT SÜSPANSİYONU HAZIRLANMASI	42
3.4.DOKU-PLAZMA-ERİTROSİT SÜSPANSİYONU	
ÖRNEKLERİNDEN BİYOKİMYASAL İNCELEMELERİN YAPILMASI.....	42
3.5. DOKU ÖRNEKLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK	
İNCELENMESİ.....	44
3.6. BİYOKİMYASAL ve HİSTOPATOLOJİK SONUÇLARIN	
İSTATİSTİKSEL ANALİZİ.....	45
IV. BULGULAR.....	46
4.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR.....	46
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	49
V. TARTIŞMA	52
VI. SONUÇ.....	58
VII. ÖZET.....	59
VIII. SUMMARY	61
IX.KAYNAKLAR.....	63

TABLÖLAR

Tablo-I	: Antioksidan savunma sistemleri.	21
Tablo-II	: Plazmada ölçülen biyokimyasal parametrelerin sonuçları.	47
Tablo-III	: Eritrositlerde ölçülen biyokimyasal parametrelerin sonuçları.	47
Tablo-IV	: Böbrek dokusunda ölçülen biyokimyasal parametrelerin sonuçları.	48
Tablo-V	: Histopatolojik değerlendirme.	50
Tablo VI	: Histopatolojik sonuçlar.	51

ŞEKİLLER

- Şekil I** : Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları. 15
- Şekil II** : İskemide membran hasarının mekanizmaları. 16
- Şekil III** : Resveratrol'ün kimyasal yapısı. 32

RESİMLER

- Resim I** : Batın bölgesinin traş edilerek povidone-iodine solüsyonu ile temizlenmesi. 40
- Resim II** : Median laparotomi yapılarak bağırsakların sağa doğru dışarı alınması ve retroperitona ulaşılarak abdominal aortanın üzerinin açılması. 40
- Resim III** : İnfrarenal abdominal aortaya mikrovasküler klemp konularak 60 dakika boyunca total aortik oklüzyonun sağlanması. 40
- Resim IV** : Deklempaj sonrası kanama kontrolünü takiben bağırsaklar içeriye yerleştirilerek karın kapatıldı ve ratlar 120 dakika süreyle reperfüzyon sürecine alınması. 41
- Resim V** : Sağ böbreğin biyokimyasal tetkikler, sol böbreğin histopatolojik incelemeler için alınması. 41
- Resim VI** : Böbrek dokusu. 51

KISALTMALAR

ACE : Anjiotensin dönüştürücü enzim

ADP : Adenozin difosfat

AKK : Aortik kros klemp

AMP : Adenozin monofosfat

ARDS : Acute respiratory distress sendromu

ATP : Adenozin trifosfat

BUN : Blood Urea Nitrogene

Ca⁺ : İyonize kalsiyum

Co : Kobalt

Cr : Krom

Cu : Bakır

DNA : Deoksiribonükleik asit

e⁻ : Elektron

Fe⁺ : Demir

GFR : Glomerül filtrasyon hızı

GSH px : Glutasyon peroksidaz

HOCL : Hipoklorik asit

H₂O₂ : Hidrojen peroksit

ICAM : İntercellular adhezyon molekülü

İ/R : İskemi reperfüzyon

İV : İntravenöz

K⁺: Potasyum

KAT : Katalaz

LDL : Düşük molekül ağırlıklı lipoprotein

LTB₄ : Lökotrien B₄

L-NAME : L-nitro arjinin metil esteri

MDA : Malondialdehit

Mn : Mangan

Mo : Molibden

Na⁺ : Sodyum

NADPH : Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

Ni : Nikel

NO : Nitrik oksit

NOS : Nitrik oksit sentez enzimi

OH⁻ : Hidroksil

ONOO⁻ : Peroksinitrit

O₂: Oksijen

O₂⁻ : Süperoksit

°O₂ : Singlet oksijen

PAF : Trombosit aktive edici faktör

PECAM : Platelet-endothelial cell adhezyon molekülü

PGI₂ : Prostaglandin I₂

pH : Hidrojen iyon konsantrasyonu

PMNL : Nötrofil

ROOH : Peroksit

SOD : Süperoksit dismutaz

SOR : Serbest oksijen radikali

TNF- α : Tümör nekrozis faktör-alfa

TxA₂ : Tromboksan A₂

UV: Ultraviyole

VCAM : Vascular cell adhezyon molekülü

Zn : Çinko

I. GİRİŞ

İskemi reperfüzyon (İ/R) hasarı, dokunun oksijen (O₂) ve diğer metabolitlere olan gereksiniminin dolaşım tarafından sağlanamaması ve oluşan atık ürünlerin yine dolaşım tarafından uzaklaştırılmaması olarak tanımlandırılan iskemi ve onu izleyen dolaşımın restorasyonunu kapsayan reperfüzyon periyodu sonucunda oluşur. İskemiye bağlı doku hasarında hücre enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi hücre ölümüne sebep olmaktadır. İskemik dokuda geri dönüşsüz hücre hasarını önlemek için güvenli sürede yeniden kan akımının sağlanması gerekir. Ancak reperfüzyonun gerçekleştirilmesi, hücre içine moleküler oksijen sunulması ile birlikte reaktif serbest oksijen radikal (SOR) molekülleri hızla ortaya çıkmakta ve iskeminin oluşturduğu hasardan daha fazla bir hasara sebep olabilmektedir (1).

Aort cerrahisi sırasında klempaja bağlı oluşan İ/R hasarının yol açtığı lokal ve sistemik etkiler tüm teknolojik gelişmelere rağmen halen vasküler cerrahide önemli bir sorun olarak devam etmektedir. Lokal etkiler klemp distalinde damarlarda ve kas dokusunda görülürken, sistemik etkiler de başlıca beyin, kalp, akciğer, böbrekler olmak üzere hemen tüm organlarda görülür. İskemi reperfüzyon periyodları sırasında, mikrovasküler fonksiyonların bozulması ile hem direkt olarak etkilenen organda hem de sistemik inflamatuvar yanıtı harekete geçirerek uzak organlardaki arteriyollerde bozulmuş endotel bağımlı dilatasyon oluşur. Bu patolojik süreçte kapiller yatakta artmış sıvı filtrasyonu ve lökosit tıkaçları, postkapiller venüllerde plazma proteinleri ve lökosit ekstrasvazasyonu oluşur. Bu etkiler mikrosirkülasyonun her kademesinde artmış SOR üretimi ile ortaya çıkmaktadır. SOR molekülleri; lipid peroksidasyonu ile hücre zarı yapısını bozar, hücre zarı transport sisteminin çalışmasını engeller. Proteinlerin oksidatif modifikasyonu ile hücresel enzimlerin işlevlerini kaybetmesine yol açar ve deoksiribonükleik asit (DNA) üzerinde oluşturdukları hasar ile de hücresel adenzin trifosfat (ATP) üretimini engelleyerek enerji üretiminin bozulmasına sebep olur (2). Alt ekstremitelerde akut İ/R hasarı özellikle aort cerrahisinde abdominal aortaya geçici süre kros-klemp uygulanmasında ve tek veya çift taraflı

akut femoral arter tıkanıklıklarında ortaya çıkmaktadır. İskemik kalan ekstremitelerde lokal doku hasarı, iskemik alanın dışındaki bölgelerde de uzak organ hasarı oluşabilir. Uzak organ hasarında böbrekler önemli hedef organlardan olup bu durum klinik olarak önem taşımaktadır (3).

Antioksidan, anti-enflamatuvar, anti-apoptotik etkileri olan resveratrol'ün kardiyovasküler hastalıklarının patofizyolojisinde oksidatif hasara karşı koruma yeteneği gösterilmiştir, fakat biyokimyasal ve hücrel mekanizmaları tam olarak açıklanamamıştır (4,5).

Resveratrol, İ/R sonrası uzak organ hasarlarına karşı koruyucu etkinliğinin bilinmesine rağmen, abdominal aort cerrahisinde alt ekstremitelerde İ/R hasarında uzak organ hasarı üzerindeki etkileri henüz yeterince araştırılmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, rat infrarenal abdominal aortasında oklüzyon-reperfüzyon sonrası, böbreklerde oluşan İ/R hasarına resveratrol etkisini araştırmaktır. Bu nedenle, rat infrarenal abdominal aortasında oklüzyon-reperfüzyon sonrası, kan örneklerinde Cystatin-C, Blood Urea Nitrogen (BUN), üre, kreatinin, tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α), malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH px) ve böbrek doku örneklerinde MDA, SOD, GSH px, TNF- α düzeyleri biyokimyasal olarak ölçüldü ve histopatolojik olarak doku örnekleri hemotoksilen-eosin boya ile boyanarak ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

II. GENEL BİLGİLER

2.1. İSKEMİ

İskemi; dokunun O₂ ve diğer metabolitlere olan gereksiniminin dolaşım tarafından sağlanamaması ve bu süreçte oluşan iskemik atık ürünlerin yine dolaşım tarafından uzaklaştırılmaması olarak tanımlanır. İskemik hasarın derecesi hipoksinin derinliğine ve süresine bağlıdır. Sonuçta iskemiye bağlı doku hasarında, hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi o dokuya ait hücrelerin fonksiyon bozukluğu ile başlayan ve hücre ölümüne kadar ilerleyen bir dizi biyokimyasal olay gerçekleşir (6,7).

İskemiye bağlı hücrel seviyede geri dönüşümlü (reversible) ve geri dönüşümsüz (irreversible) hasarlar meydana gelebilmektedir.

2.1.1. REVERSİBLE ZEDELLENME

Normotermide 3-4 dakikalık iskemi, yüksek enerjili fosfat olan fosfokreatinin ile ATP depolarının boşalması ve enerji bağımlı membran iyon pompalarının normal iyon gradiyentini gerçekleştirememesine sebep olur (8).

Hipoksinin ilk etkisi hücrenin aerobik solunumu yani mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon üzerinedir. O₂ basıncının azalması sonucu hücre içi ATP azalmasının hücre içindeki birçok sistemler üzerinde olumsuz etkisi olur. Plazma membranının ATP enerjili “sodyum potasyum (Na K Atp az) pompası”nın aktivitesi azalır. Bunu, Na⁺’un hücre içinde birikimi ve potasyumun (K⁺) hücre dışına geçişi izler. Hücre içinde artan Na⁺’ı çıkarmak için Na⁺ - Ca²⁺ pompa sistemi çalışmaya başlar. Bu sistem hücre içindeki artmış Na⁺’dan bir adet dışarıya çıkarırken bunun yerine bir adet Ca²⁺ içeriye taşır. Bunun sonucu olarak hücre içi Ca²⁺ miktarı artar. (Fizyolojik koşullarda hücre içinde biriken fazla Ca²⁺ dışarı atılarak ya da hücre içinde depolanarak tolere edilir). İskemi sırasında hücrede enerji tükendiğinden sitoplazma ve mitokondride fazla miktarda Ca²⁺ birikmekte

ve Ca^{+2} 'nin toksik etki göstermesine neden olmaktadır. Artan Ca^{+2} düzeyi fosfolipazları, proteazları aktive ederek SOR ve serbest yağ asitleri oluşumunu artırır. Na^{+} eriğinin net artışı, suyun izoosmotik artışı ile birlikte olup akut hücresel şişmeye neden olur. Bu şişme, inorganik fosfatlar, laktik asit ve pürin nükleozitleri gibi diğer metabolitlerin birikimi ile artan ozmotik yükü daha da artar (9).

Hücre ATP'de azalma ile birlikte adozin monofosfatta (AMP) artma da fosfofrüktokinaz enzimini uyararak, glikojenden ATP üretimi ile hücrenin enerjisini temin amacıyla gelişen anaerobik glikoliz hızını artırır. Aerobik glikolizin durması ve anaerobik glikolizin devam etmesi sonucunda, aerobik glikolizle elde edilen ATP'nin ancak % 7'si elde edilmektedir (10). Sonuç olarak; glikojen hızla tükenir, artan glikoliz de fosfat esterlerinin hidrolizi ile laktik asit ve inorganik fosfatların birikimine neden olarak hücre içi pH'nın düşmesine yol açar. Hücre içi asidoz normal enzim kinetiklerini bozar ve lizozomal membranları zedeler. Proteaz, DNAaz, RNAaz, glukozidaz ve katepsinler gibi enzimlerin lizozomlardan sızması hücre yapısının enzimatik sindirimine neden olur.

İskemi sırasında serbest yağ asitlerinin konsantrasyonları artar (11). Serbest yağ asitleri Ca^{+2} 'nin mitokondriden salınımını arttırarak etkisini çoğaltır. Yüksek hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu Ca^{+2} 'ye bağlı fosfolipaz A_2 'yi aktive ederek plazma membranından serbest yağ asitlerinin sitozole salınımını arttırır (12). Salınmış yağ asitleri (özellikle araşidonik asit) siklooksijenaz ve lipooksijenaz tarafından prostaglandinlere çevrilir (13). Araşidonik asit metaboliti olan tromboksan A_2 , trombosit agregasyonu, vazokonstriksiyon, mikrosirkülatuar kan akımında azalmaya ve iskemik hücre hasarına yol açmaktadır (14). Aynı zamanda güçlü bir kemotaktandır ve polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) endotele adezyonunu arttırır. Trombositleri aktive ederek vazospazma ve iskeminin artmasına neden olur. Sonraki olay ribozomların granüllü endoplazmik retikulumdan ayrılması ve polizomlardan monozomların oluşumu ile protein sentezinde azalmadır. Hipoksi düzelmez ise mitokondrial fonksiyonun daha da kötüleşmesi ve membran permeabilitesinin artması daha fazla morfolojik bozulmaya neden olur. Hücrenin ana hatları, mikrovilluslar gibi ultrastrüktürel

özelliklerin kaybı ve hücre yüzeyinde kabarcıkların oluşumu ile bozulur. Mitokondriler, endoplazmik retikulum ve gerçekte tüm hücrede ozmotik regülasyonun kaybindan dolayı çoğunlukla şişmiş görünür. Eğer bu aşamada dolaşım eski seviyesine dönerse tüm bu değişimler reversibledir, iskemi süresi uzarsa irreversible zedelenme meydana gelir (15).

2.1.2. İRREVERSİBLE ZEDELLENME

Morfolojik olarak irreversible zedelenmeye; mitokondrilerin daha şiddetli vakuolizasyonu ve mitokondri matriksinde hasar meydana getirecek seviyede aşırı Ca^{+2} birikimi eşlik eder. Aynı zamanda plazma membranlarının geniş hasarı ve lizozomların şişmeside vardır. Özellikle iskemik alan yeniden kanlandırılırsa hücre içine masif Ca^{+2} akışı olur. Bu da, Ca^{+2} 'a bağlı değişiklikleri ortaya çıkarır. Aşırı geçirgen membranlardan proteinlerin, esansiyel koenzimlerin ve ribonükleik asitlerin kaybı devam eder. Hücrelerden ATP'nin oluşumu için önemli metabolitler de sızabileceğinden, hücre içi yüksek enerjili fosfatlar daha da azalır. Lizozomal membranların zedelenmesi enzimlerin sitoplazma içine sızmasına yol açar. Asit hidrolazlar, iskemik hücrenin azalmış hücre içi pH'sında aktifleşerek sitoplazmik ve nükleer elemanları parçalar. Hücre ölümünden sonra hücre sel elemanlar lizozomal hidrolazlarla sindirilmeye devam eder. Hücre sel enzimlerin hücre dışına yaygın olarak sızması yanı sıra interstisyumdaki hücre dışı makro moleküllerin de hücre içine geçişi söz konusudur. Ölü hücreler sonunda "myelin sekiller" olarak tanımlanan büyük helezon şeklinde fosfolipid kitleleri haline gelebilir. Bu fosfolipid çökeltiler daha sonra ya diğer hücreler tarafından fagosite edilir veya yağ asitlerine parçalanır. Bu yağ asitlerinin kalsifikasyonu Ca^{+2} sabunlarının oluşumuna sebep olur (16).

Hücre içi proteinlerin parçalanmış hücre membranından geçerek periferik dolaşıma sızması, kan serum örneklerinde dokuya özgül hücre zedelenmesi ve ölümü göstermeyi sağladığından değerli bir işarettir. Örneğin kalp kası, kreatin kinaz enzimi ve kontraktıl protein troponinlerin spesifik izoformunu içerir. Genel dolaşımda bu gibi artmış protein seviyeleri bu dokularda irreversible zedelenme ve hücre ölümünü yansıtır (16).

2.2. REPERFÜZYON ve REPERFÜZYON HASARI

Reperfüzyon, kan akımının iskemik dokuya tekrar geri sağlanmasıdır, yani dolaşımın yeniden restorasyonudur. İskemik dokuda enerji ihtiyacının sağlanması ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması olarak iki olumlu etkisi vardır. Eğer hücre irreversible şekilde hasara uğramadıysa, bu sayede enerji depoları yenilenir ve hücrel hemeostazis geri kazanılmış olur. Reperfüzyon iskemik hasarın düzeltilmesi için gerekli bir süreçtir. İskemik organa tekrar kan sunumu yapılırken yani reperfüzyon süresince hücrelerin geri dönüşsüz hasara uğramaları da söz konusudur (17). Reperfüzyon iskeminin tek başına oluşturduğu hasardan çok daha fazla hasar oluşturabilir (1).

Reperfüzyon hasarının tam mekanizması bilinmemekle beraber reaktif SOR, endotelial faktörlerin, PMNL'lerin, hücre içi Ca^{+2} dengesi bozukluklarının, mikrovasküler disfonksiyonun, enflamatuvar reaksiyonların ve apoptozisin reperfüzyon hasarının altında yatan potansiyel mekanizmalar olduğu düşünülmektedir (18,19).

Reperfüzyon hasarına doğrudan veya dolaylı olarak katılan pek çok madde ve biyokimyasal reaksiyon tanımlanmıştır. Bu maddelerin birbiriyle etkileşimi sonucunda İ/R hasarının reperfüzyon kısmının mediyatörleri olan SOR ortaya çıkar.

Serbest radikaller, en dış yörüngesinde tek sayıda elektron içeren, anstabil, ileri derecede reaktif, kısa ömürlü moleküllerdir. Moleküler O_2 indirgenmesi ve eksitasyonu ile çok değişik SOR üretilebilir (20,21). SOR iskemi esnasında da oluşur fakat O_2 miktarı az olduğu için az miktarda oluşur ve fonksiyon görmezler. Kan akımı ve O_2 sağlanmasının düzelmesi ile büyük miktarlarda SOR üretilerek reperfüzyon hasarı indüklenir (21).

Organizmada SOR ortaya çıktıktan sonra radikal reaksiyon dizileri başlar. Eğer bir serbest radikal, radikal olmayan bir molekülle reaksiyona girerse, binlerce reaksiyondan oluşan reaksiyon zincirlerini başlatır. SOR paylaşılması

elektronlarından dolayı lipid, protein, nükleik asit, karbonhidrat gibi çeşitli makromoleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar (20).

2.3. SERBEST RADİKALLER

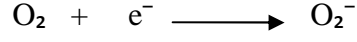
SOR, hem süperoksit (O_2^-), hidroksil (OH^-) gibi O_2 içeren radikallere hem de aslında radikal olmayan ancak reaksiyonları ile O_2 içeren radikallerin oluşumuna neden olabilen peroksit (ROOH), singlet oksijen (1O_2), hipoklorik asit (HOCl) gibi molekülleri içerir (22).

SOR, biyolojik sistemlerde hem yararlı hem de zararlı etki göstermektedir (23). SOR'un yararlı etkileri arasında hücrel cevaplar gibi fizyolojik rolleri vardır. Örneğin, enflamasyon oluşturan ajanlara karşı savunmada ve hücrel sinyal iletiminde önemli bir fonksiyonu vardır. Çoğunlukla SOR düşük konsantrasyonlarda mitojenik özelliğın uyarılması gibi yararlı etkiler gösterirken yüksek düzeylerde protein, nükleik asit ve lipidleri içeren hücrel yapıların bozulduğu önemli reaksiyonlarda rol alır (24). SOR'un oluşturacağı zararlı etkiler antioksidan enzimlerle ve bunlara destek olarak enzimatik olmayan antioksidanlarla engellenmeye çalışılır. SOR'un etkisi ile oluşan oksidatif zararı önlemek için antioksidatif savunma sistemlerinin bulunmasına rağmen, reaktif oksidanlar yaşam süresince organizmada birikim gösteren ve serbest radikallerin neden olduğu DNA, lipid ve protein hasarları, yaşlanmadan kaynaklanan nörodejeneratif bozukluklar, artrit, ateroskleroz ve kanser gibi hastalıkların gelişiminde önemli rol oynadığı öne sürülmektedir (25).

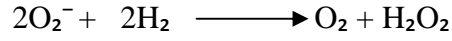
İskemik dokuların reperfüzyonu toksik SOR oluşumuna yol açar. Bunlar O_2^- , OH^- , HOCl, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve nitrik oksitten (NO) derive peroksinitrittir ($ONOO^-$). Bunlar arasında en potent olan OH^- dir (26).

2.3.1. SÜPEROKSİT (O₂⁻), HİDROJEN PEROKSİT (H₂O₂)

O₂'nin bir elektron alarak indirgenmesiyle kararsız bir yapı olan O₂⁻ radikali oluşur.



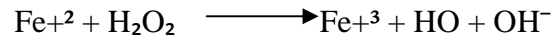
O₂⁻ anyonuna bir elektron eklenirse (O₂⁻ dismutasyonu) veya O₂'nin doğrudan indirgenmesiyle H₂O₂ oluşur. Dismutasyon spontan olarak veya SOD enzim aracılığı ile katalize edilebilir (27).



SOD

2.3.2. HİDROKSİL (OH⁻), FENTON ve HABER-WEISS REAKSİYONLARI

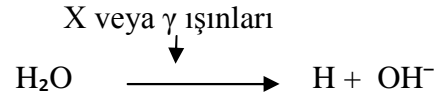
Fenton reaksiyonu: H₂O₂'nin, demir (Fe⁺²) ve diğer geçiş elementleri (bakır (Cu), çinko (Zn), mangan (Mn), krom (Cr), kobalt (Co), nikel (Ni), molibden (Mo)) varlığında indirgenerek OH⁻ radikali oluşur (28,29).



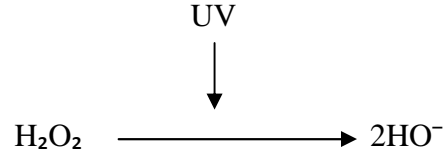
Haber- Weiss reaksiyonu: H₂O₂, O₂⁻ ile reaksiyona girerek OH⁻ radikalini oluşturur. Bu reaksiyon Cu ve Fe⁺² tarafından katalizlenir (30).



Suyun yüksek enerjili iyonizan radyasyona maruz kalmasıyla da OH⁻ oluşur.

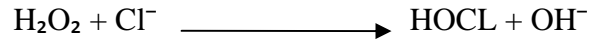


H_2O_2 'nin ultraviyole (UV) ışığına maruz kalması ile OH^- oluşabilir.



2.3.3. HIPOKLORİK ASİT (HOCL)

HOCL radikal olmadığı halde SOR arasında yer almaktadır. Fagositik hücreler tarafından bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar. Aktive olan PMNL'ler, monosit, makrofajlar ve eozinofiller O_2^- radikali üretirler. Radikal üretimi fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde büyük önem taşır. Özellikle PMNL'ler içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığı ile O_2^- 'nin dismutasyonu ile oluşan H_2O_2 'yi klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCL'ye dönüştürür.



2.3.4. SİNGLET OKSİJEN ($^{\circ}\text{O}_2$)

Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde SOR grubunda yer alır. $^{\circ}\text{O}_2$ serbest radikal reaksiyonların başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır.

2.4. DOKULARDA SERBEST RADİKAL KAYNAKLARI

2.4.1. ENDOJEN KAYNAKLAR

1. Mitokondrial elektron transportu: Elektron taşıyıcıları O_2 'e elektron sızdırabilir. O_2 %1 oranında O_2^- 'e indirgenebilir.

2. Plazma membranı: Lipid peroksidasyonu, fagositik hücrelerde nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz.

3. Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri: Sitokrom P450, Sitokrom B5.

4. Peroksizomlar: Oksidazlar, flavoproteinler.

5. Otooksidasyon reaksiyonları: Fe^{+2} , adrenalin.

6. Yaşlanma.

7. Stres: Streste artan katekolaminler ve bunların oksidasyonları sonucunda serbest radikaller oluşur.

8. İskemik hasarlı bölgenin reperfüzyonu.

9. İnflamasyon: PMNL ve makrofajlar yolu ile oluşurlar.

2.4.2. EKSOJEN KAYNAKLAR

1. Alışkanlık yapıcı maddeler: Sigara, alkol, uyuşturucu.

2. Çevresel faktörler: Radyasyon, hava kirliliği.

3. Aşırı oksijen konsantrasyonu (Hiperoksi).

4. Antineoplastik ilaçlar: Bleomisin, doxorubicine, adriamicine.

2.5. SERBEST RADİKALLERİN DOKULARA ETKİLERİ

2.5.1. SERBEST RADİKALLERİN LİPİDLER ÜZERİNE ETKİLERİ

Hücre içi organeller, biyomembranlar ve membran fosfolipidlerinde bulunan doymamış yağ asitleri oksidatif ataklara aşırı derecede duyarlıdır (31). Serbest radikallerin hücrede başlattığı en önemli ve zararlı etki lipid peroksidasyonudur.

O_2^- , OH^- , ROOH lipid peroksidasyonunu başlatan radikallerdir. Aynı zamanda Fe^{+2} iyonlarında lipid peroksidasyonunda önemli rolü vardır. Yağ asidinin oksidasyonu metilen karbonundan hidrojen atomunun çıkarılması ile başlar ve yağ asidi radikali oluşur. İlerleme aşamasında yağ asidi radikaline hızlı bir şekilde O_2 eklenerek ROOH radikalini oluşturur. Lipid ROOH radikalleri zincir reaksiyonlarının başlatıcılarıdır, bunlar diğer çoklu doymamış yağ asidi moleküllerinden hidrojen atomlarını çıkararak yeni reaksiyonları başlatırlar (32,33). Sonlanma aşamasında lipid hidroperoksidleri yıkılarak daha reaktif radikal türleri oluşur. ROOH radikaller ayrıca siklik peroksidleri de oluşturabilmektedirler. Ortamda bulunan Fe^{+2} ve Cu tuzları lipid hidroksi peroksidlerinin yıkılımını hızlandırmakta olup, oluşan ROOH ve alkoksi radikalleri lipid peroksidasyonlarını uyarır. Oksijenle karşılaşan lipidlerin peroksidasyonu (otooksidasyon) besin maddelerinin sadece bozulmasından sorumlu olmayıp ayrıca kansere, inflamatuvar hastalıklara, ateroskleroz ve doku yaşlanması gibi durumlara neden olabilen doku hasarından da sorumludur. Metilen ile kesintiye uğramış çift bağları içeren yağ asitlerinin peroksidlerinin oluşumu sırasında meydana gelen serbest radikaller tarafından zararlı etkiler başlatılır. Lipid peroksidasyonu bir zincir reaksiyonu olup daha ileri peroksidasyonu başlatan serbest radikaller için sürekli bir kaynak sağlar. İşlevleri başlatan moleküler ön madde genelde H_2O_2 ürün ROOH olduğundan, lipid peroksidasyonu potansiyel olarak yıkıcı etkilerle dallanan bir zincir reaksiyonudur. Hem insanlar hem de doğadaki lipid peroksidasyonunu kontrol etmek ve azaltmak için antioksidanların kullanılmasından yarar umulmuştur.

Lipid peroksidasyon reaksiyonları genel olarak iki tiptir;

1- Non enzimatik lipid peroksidasyonları: Poliansatüre yağ asidindeki metilen karbonundan hidrojen atomunun uzaklaştırılması reaksiyonlarını kapsar.

2- Enzimatik lipid peroksidasyonu: Siklooksijenazlar ve lipooksijenaz reaksiyonları sonucunda oluşan H_2O_2 ve endoperoksidler, enzimatik reaksiyon ürünleridir. Reaksiyon ışık veya metal iyonları ile başlatılır. Malondioksit sadece ω -3 veya daha fazla çift bağlı yağ asitleri tarafından oluşturulur ve ω -6 yağ

asitlerinin son kısmındaki 5. karbondan meydana gelen pentanla birlikte lipid peroksidasyonunun ölçümünde kullanılır. Lipid peroksidasyonunun son ürünü olarak MDA oluşur. MDA hücre zarından kolay difüze olur ve hücre içinde lipofuksin şeklinde sitoplazmada birikir (34).

Membranda lipid peroksidasyon hasarını etkileyen birçok faktör vardır ve bu faktörleri şu şekilde sıralayabiliriz:

- a- Membranın lipid/protein oranı
- b- Fosfolipid miktarı
- c- Yağ asitlerinin bileşimi
- d- Yağ asitlerinin doymamışlık derecesi
- e- Membranın akışkanlığı.

Membranda lipid peroksidasyonu sonucu:

- a- Membran transport sistemleri bozulur
- b- Hücre içi ve hücre dışı iyon dengeleri bozulur
- c- Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artar ve buna bağlı olarak proteazlar aktive olur
- d- Hücre içi organellerde oluşan lipid peroksidasyonu ve litik enzimlerin salgılanmasına bağlı hücre hasarı gelişir (35).

Lipid Peroksidasyonu ve okside LDL

Düşük molekül ağırlıklı lipoprotein (LDL) yapısındaki lipidlerin oksidasyonu sonucunda yapısındaki modifikasyon sonucu okside LDL meydana gelir. Okside LDL normal LDL'nin kullandığı reseptörlerden ayrı olarak hücreye alınır. Bu yolla hücre içine alınan LDL, hücre içinde kolesterol artışına ve köpük hücre oluşumuna sebep olur. Okside LDL makrofajlar tarafından hızla yıkılır ve hücre için toksiktir.

Okside LDL'nin etkileri;

- 1- Endotelde adezyon moleküllerin ekspresyonunu artırır
- 2- Endotele monosit adezyonunu artırır

- 3- T hücre aktivasyonunu ve monosit farklılaşmasını indükler
- 4- Makrofaj mobilitesini inhibe eder
- 5- Makrofajlardan interlökin sentezini ve sekresyonunu uyarır
- 6- Ateroskleroz oluşumuna zemin hazırlar.

2.5.2. SERBEST RADİKALLERİN PROTEİNLER ÜZERİNE ETKİLERİ:

Proteinler, büyük molekül ağırlıklı polipeptidlerdir. Hücre fonksiyonunda ve hücre yapısında çok önemli rol oynamaktadırlar. Primer, sekonder, tersiyer ve kuarterner yapıdan oluşmaktadırlar. Yapısında peptid bağları, hidrojen bağları (en az enerjili ve en az kararlı yapıyı oluşturur), disülfid, hidrofobik, iyonik ve Wan der Walls (London) bağlarını içermektedir. Primer yapıyı peptid bağları (asit-amid) oluşturmaktadır. Peptid bağları, prolin ve lizin gibi amino asitler serbest radikallerden oldukça kolay etkilenir. Serbest radikal reaksiyonları direkt olarak polipeptid parçalanmasına da yol açabilir (36). Serbest radikaller ile oluşan protein oksidasyonunun sonucunda metionin sülfokside, histidin, oksihistidine veya asparagine, tirozin, ditirozine ve sistein disülfidlere dönüşür. Bu değişiklikler proteinlerin bağlanma özelliklerinde ve enzim aktivitelerinde farklılaşmaya neden olarak hücre fonksiyonlarında bozulmalara yol açabilir (37,38).

Proteinler serbest radikallere daha az hassas olup başlayan zararlı zincir reaksiyonunda hızlı ilerleme olasılığı daha azdır. Proteinler serbest radikal harabiyetinden aminoasit içeriğine bağlı olarak etkilenirler. Bu reaksiyonlar sonucu immunglobulin G ve albümin gibi fazla sayıda disülfid içerenlerin yapısı bozulur. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda etkilenir.

2.5.3. SERBEST RADİKALLERİN NÜKLEİK ASİTLER VE DNA ÜZERİNE ETKİLERİ

İyonize radyasyondan kaynaklanan hücre mutasyonları ve hücre ölümü, serbest radikallerin DNA ile olan reaksiyonu sonucu oluşabilir. Bu olayda

özellikle OH⁻ radikali rol oynamaktadır. Hem baz dizilerinde hem de riboz-fosfat bağlarında kopmalara neden olarak DNA'ya hasar verir (35).

Serbest radikal reaksiyonları sonrasında, nükleik asitlerde baz değişimleri ve DNA'da zincir kırılmaları meydana gelir. Escherichia Coli üzerinde yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda, DNA'daki radikal hasar sonucu endonükleaz'a duyarlı yeni bölgelerin oluştuğu ve sonuçta DNA'ya özgün kırılmaların varlığı gösterilmiştir. Bu değişim tamir sistemlerindeki yetersizlik sonucu düzeltilemezse mutasyonlar gelişir, hatta malign transformasyona sebep olabilir. Oksidatif DNA hasarının göstergesi 8-hidroksi deoksiguanozin (8-OH dG;8-oxo-2'-deoksiguanozin) dir (39,40).

2.6. İ/R HASARINDA ROL ALAN MEKANİZMALAR

2.6.1. Ca²⁺

2.6.2. KSANTİN OKSİDAZ

2.6.3. PMNL AKTİVASYONU

2.6.4. ARAŞİDONİK ASİT METABOLİTLERİ (PGI₂, TxA₂, LTB₄)

2.6.5. NİTRİK OKSİT (NO)

2.6.6. ENDOTELİN

2.6.7. TROMBOSİT AKTİVE EDİCİ FAKTÖR (PAF)

2.6.8. KOMPLEMANLAR

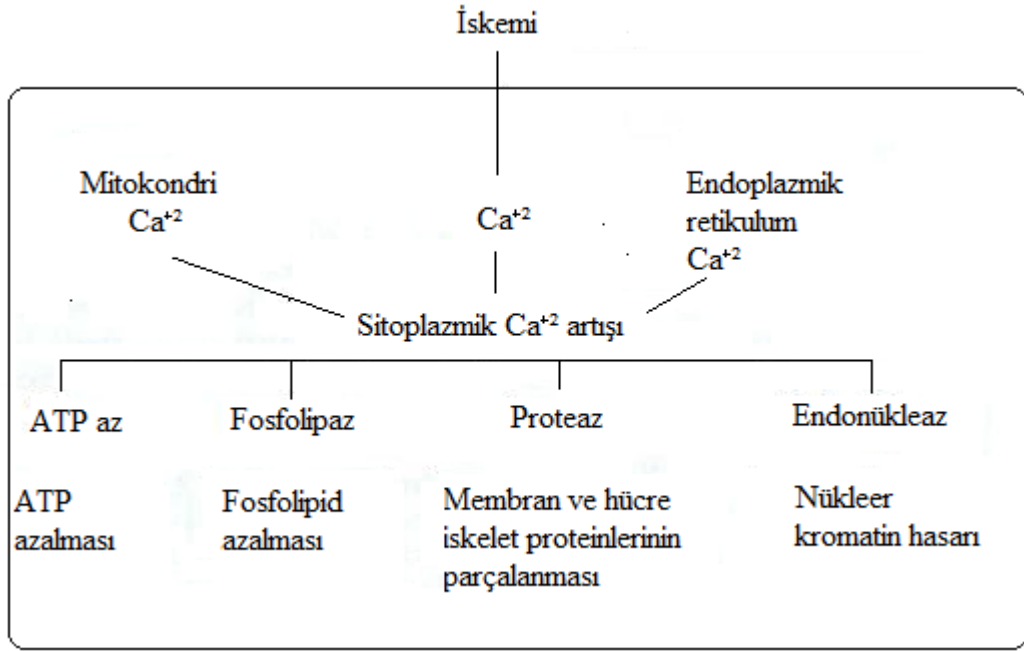
2.6.9. SİTOKİNLER

2.6.10. KATEKOLAMİNLERİN OKSİDASYONU

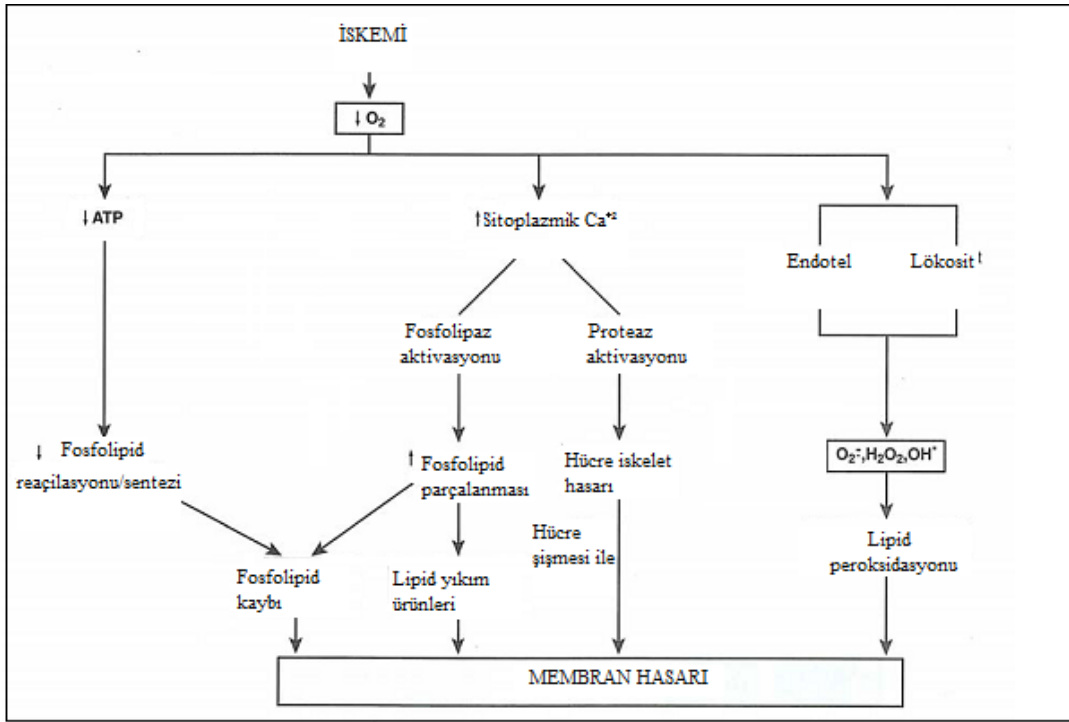
2.6.1. Ca²⁺

İ/R hasarına bağlı hücre yaralanması ile ilgili olduğu düşünülen bir elementtir. Ca²⁺ transportunu etkileyen herhangi bir durum hücre fonksiyonlarını olumsuz etkiler. Ca²⁺ ATP az enzimleri önemli sülfidril gruplarına sahiptir ve SOR tarafından inaktive edilebilir. Hipoksi, sitokinler, endotoksin gibi faktörler SOR aracılığıyla hücre enerjisini azaltabilirler (41).

Reperfüzyon esnasında sarkolemmal membran hasarına ve oksidatif stresin indüklediği sarkoplazmik retikulum disfonksiyonuna bağlı olarak hücre içi Ca^{+2} miktarında belirgin artış olur. Ca^{+2} paradoksu adı verilen bu durumda rol oynayan temel hücresel mekanizmalar, iskemi esnasında aktive olmuş olan Na^{+}/Ca^{+2} değiştirici kanalı ile düşen hücre içi pH'ı normalize etmek için reperfüzyon esnasında aktive olan ve hücre dışına H^{+} iyonu atarken hücre içine, Ca^{+2} ile değiştirilecek olan Na^{+} girişini sağlayan Na^{+}/H^{+} değiştirici kanalıdır (42). Ayrıca Ca^{+2} 'nin proteaz aktivasyonu, gap junction disfonksiyonu ve membran rüptürü yaptığı da bilinmektedir (43). İskemide hücre içi Ca^{+2} artışının kaynakları ve etkileri şekil I'de gösterilmiştir. İskemide membran hasarının mekanizmaları şekil II'de gösterilmiştir.



Şekil I. Hücre zedelenmesinde sitoplazmik Ca^{+2} artışının kaynakları ve sonuçları



Şekil II. İskemide membran hasarının mekanizmaları.

2.6.2. KSANTİN OKSİDAZ

Ksantin oksidoredüktaz, hipoksantin gibi pürinlerin iki aşamalı oksidasyonu ile ksantin üzerinden ürata dönüşmesini sağlayan bir enzimdir. İn vivo olarak bu enzim, dehidrogenaz (D şekli) ve oksidaz (O şekli) olarak iki şekilde bulunabilir. Dehidrogenaz şekli SOR oluşumuna neden olmazken, oksidaz şekli elektron kabul edici olarak moleküler O_2 'i kullanır ve O_2^- radikalinin ortaya çıkmasına neden olur. Ksantin oksidoredüktaz'ın normal dokularda dehidrogenaz şekli bulunurken iskemi, irreversible proteoliz ve yan grupların reversible oksidasyonu sonucunda oksidaz şekline dönüşebilir (44,45).

İskemi ile hücre içindeki ATP ve ADP gibi yüksek enerjili adenin bileşikleri AMP'ye indirgenir. Sonuçta hücre içi AMP konsantrasyonu artar. Artmış bulunan AMP'den adenozin ayrılır. Adenozin sırayla inozin ve hipoksantine dönüşür. ATP azalması nedeniyle membranların iyon gradiyentini koruyamaması nedeniyle hücre içine Ca^{+2} girişi olur (46). Hücre içine giren Ca^{+2} , proteazları aktive ederek ksantin dehidrogenazdan ksantin oksidaz oluşmasını sağlar. Ksantin oksidaz aracılığı ile de hipoksantinden ksantin, bundan da geri dönüşümsüz olarak ürik

asit oluşur. Reperfüzyon sırasında dokuya gelen bol miktarda O_2 molekülünden, bu reaksiyonlar sırasında SOR'lerinden O_2^- ve H_2O_2 oluşur. Bununla birlikte hipoksantin yıkılmaya başlamadan önce, yeterli O_2 akımı sağlanırsa, hipoksantin ve diğer bileşiklerden tekrar ATP oluşur. Bu bileşiklere “fonksiyonel pürin bazı” denmektedir (47,48).

2.6.3. PMNL AKTİVASYONU

Post-iskemik dokuda diğer önemli bir SOR kaynağıdır. Nötrofillerin membranlarında bulunan NADPH'ya bağlı oksidaz sistemleri SOR oluşumunun en önemli kaynaklarından birini oluşturur. Bu enzim normalde inaktiftir. Bakteriler, mitojenler yada sitokinlerce aktive edildiklerinde O_2 'nin H_2O_2 ve O_2^- dönüşmesine yol açar. O_2^- oluşumunda nötrofil kemotaksisinin de önemli rolü vardır. Ca^{+2} , fosfolipaz A₂ aktivitesini sağlanması sonucunda ortaya çıkan lökötrienlerin aktive ettiği PMNL hücreler üzerinden de O_2^- oluşumu gerçekleşmektedir. PMNL kaynaklı reperfüzyon hasarı mikrovasküler alana kemotaktik birikimi ve mikrovasküler endotelyuma adezyonuyla karakterizedir (49).

Grisham ve arkadaşları İ/R etkisinin dokuda PMNL birikimi ile doğrudan ilişkili olduğunu ve bu akümüülasyonun normal hemostaza göre iskemi döneminde 5 kat ve reperfüzyon döneminde ise 18 kat daha fazla gerçekleştiğini tespit etmişlerdir (50). PMNL'lerin mikrovasküler endotele adezyonunda en önemli rolü PMNL membran molekülü olan glikoprotein CD18 oynamaktadır. Monoklonal antikolar CD18 reseptörlerini inhibe ederek PMNL'lerin kapiller endotele kemotaksi, agregasyon ve adezyon etkilerini inhibe ederler. PMNL bağımlı reperfüzyon hasarında PMNL adezyonu en önemli basamaktır (51).

Ancak önemli olan bir başka nokta ise ksantin oksidaza bağımlı SOR'lerinin etkinliği saniyeler içinde kaybolmakta ve hipoksantin substratının tükenmesiyle tamamen durmaktadır. Buna rağmen, PMNL bağımlı SOR oluşumu sınırsızdır. PMNL aktivasyonu devam ettiği ve ortamda O_2 bulunduğu sürece NADPH bağımlı SOR üretimi devam edecektir.

2.6.4. ARAŞIDONİK ASİT METABOLİTLERİ (PGI₂, TxA₂, LTB₄)

Endotel hücrelerinden serbestlenen ilk vazoaaktif ajan olan prostoglandin I₂ (PGI₂) endotelyal yüzeylerde trombosit agregasyonunu önleyen güçlü bir vazodilatatördür.

Araşidonik asitten siklooksijenaz yardımı ile oluşan tromboksan A₂ (TxA₂) trombositleri agregre eder ve vazokonstrüktör etkisi vardır. Reperfüzyon, prostaglandin üretiminin en güçlü uyarandır. TxA₂, İ/R'de endotelyuma PMNL adhezyonunu uyaran güçlü bir kemotaktik maddedir.

Lökotrien B₄ (LTB₄), İ/R boyunca endotelial disfonksiyonda önemli rol oynayan ve lipooksijenaz yoluyla oluşan araşidonik asit metabolitleridir. LTB₄, PMNL yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanır. Adezyon moleküllerinin aktivasyonunu, endotelial hücrelere yapışmayı, serbest oksijen radikallerinin ve proteazların üretimini sağlar. 3 saatlik iskemik periyodu mukozal LTB₄ seviyelerini değiştirmezken, reperfüzyonun izlediği aynı süreli iskemi mukozal LTB₄ seviyelerinde % 200-600 oranında artışa yol açmaktadır. Bu da reperfüzyona bağlı oluşan hasarın sebepleri arasındadır (52).

2.6.5. NİTRİK OKSİT (NO)

Endotel türevli NO, asetil kolin uyarısı, hipoksi, endotoksin, hücresel zedelenme veya mekanik kesilme stresine yanıt olarak dolaşıma salınabilen önemli bir pro-oksidatif ve antioksidatif sinyal molekülü olmakla birlikte aynı zamanda çok reaktif bir radikaldir (53).

Yarı ömrü birkaç saniye olan, lipofilik özellikte olan diffüze olabilen bir maddedir. Bu serbest radikal damar endotel hücrelerinde NO sentaz (eNOS) enzimi tarafından L-arjininden sentezlenir (54). NO kendiliğinden nitrat ve nitrite ayrışır. Hücresel hasarın yanında büyük miktarlardaki NO parakrin ve otokrin

fonksiyonların bozulmasına, bölgesel kan akımında dağılım bozukluğuna, barsak motilitesinde azalmaya ve permeabilitesinde artışa yol açar (55).

İskemik periyoda oluşan doku hipoksisi endoteldeki NO üretimini azaltır, reperfüzyonun erken fazında azalan NO mikrovasküler vazokonstrüksiyona neden olur (56).

Oksidatif stres, NO'nun biyoyararlanımını azaltarak onun PMNL akümülyasyonunu önleme, OH⁻ radikallerini inaktive etme ve vazodilatasyon yapma gibi etkilerini engeller. Deneysel çalışmalarda NO düzeyini yükselten ajanlar iskemik hasarı azaltsa da iskemi sırasında oluşan aşırı miktardaki NO, ya bu radikalın stabil son ürünleri olan nitrit ve nitrata dönüşür, ya da OH⁻ radikali ile reaksiyona girerek bir toksik oksijen metaboliti olan ONOO⁻ oluşturur. ONOO⁻ ise dokularda hasar yapar (57).

İskemi sürecinde oksidatif stresin başlaması ile NO ve OH⁻ anyonu bağışıklık sistem hücreleri tarafından üretilir. Bu koşullar altında birbirleri ile etkileşime girerek önemli derecede kuvvetli oksidatif bir molekül olan ONOO⁻ anyonunu üretirler. Bu serbest radikal DNA kırılmalarına ve lipidlerde oksidasyonlara neden olabilir (58).

2.6.6. ENDOTELİN

Arter ve venlerde kontraksiyona neden olan en güçlü vazokonstrüktördür. İskemik kalmış bir barsağın ürettiği endotelinin, intestinal İ/R hasarının sistemik bir hasara dönüşmesinden sorumlu olabilecek güçlü bir aday olduğu ileri sürülmektedir (21).

2.6.7. TROMBOSİT AKTİVE EDİCİ FAKTÖR (PAF)

Fosfolipaz A₂'nin etkisiyle endotel hücreleri tarafından membran fosfolipidlerinden üretilir. Çok çeşitli enflamatuvar reaksiyonda akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS), akut pankreatit, enflamatuvar barsak hastalığı,

glomerüler hasar vs. etkin olduğu gözlenen bir substrattır (59). Trombositlerin şekil değişikliğine, agregasyonuna ve granül içeriğinin salınmasına yol açan oldukça kuvvetli bir ajandır. Ek olarak PAF kuvvetli bir PMNL kemotaktan üretiminde önemli bir rol oynar. Lökositlerin aktivasyonuna, adezyon ve diapedezine ve aynı zamanda vasküler permeabilitede artışa yol açar. Pek çok çalışma PAF'ın in vitro ve in vivo ortamda lökositlerin mikrovasküler endotele adhezyonunu arttırdığını göstermiştir. PAF'ın, reperfüzyon sonucu gerçekleşen kemotaksisin bir düzenleyicisi olduğu düşünülmektedir (21).

2.6.8. KOMPLEMANLAR

Komplemanların arka arkaya aktivasyonu, anaflatoksin aktive kompleman C3a ve C5a'nın üretimine yol açar. PMNL'ler üzerindeki etkileri ise kemotaksis, endotele adhezyonun artışı, SOR üretim ve salınmasını sağlamaktır (21).

2.6.9. SİTOKİNLER

Reperfüzyon sonrası, dolaşımında IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler gözlenir. Hem IL-1'in hem de TNF- α vasküler yaralanmaya katkıda buldukları ve endotel adhezyon moleküllerini arttırdıkları gösterilmiştir (21).

İ/R'de sitokin salınımının bilinmesine rağmen bu sitokinlerin permeabilite üzerine olan etkilerinin direkt mi yoksa hücre adezyon molekülleri ekspresyonu ve PMNL adhezyon aktivasyonu yoluyla mı olduğu bilinmemektedir (60).

2.6.10. KATEKOLAMİNLERİN OKSİDASYONU

2.7. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Organizmada devamlı olarak SOR oluşmasına rağmen antioksidan savunma sistemleri ile oksidasyon arasındaki dinamik dengeden dolayı zararlı etkiler ortaya çıkmaz. Fizyolojik veya patolojik olaylar sonucu bu dengenin oksidasyon lehine değişmesi durumunda oksidatif hasar gelişebilmektedir.

Organizma serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak amacı ile vücutta SOR'u enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların aktivasyonu ile dengeleyip uzaklaştırabilir. Antioksidan savunma sistemleri ve radikal tutucular tablo I'de gösterilmiştir.

Antioksidanların etki mekanizmaları;

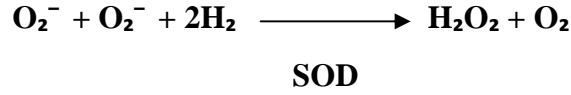
1. Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküllere çevrilmesi.
2. Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltılması veya inaktif hale dönüştürülmesi.
3. Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarının engellenmesi.
4. Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması.

Tablo I: Antioksidan savunma sistemleri

Enzim Sistemi	Radikal Tutucular
Süperoksid Dismutaz (SOD)	Glutasyon
Glutasyon Peroksidaz (GSHpx)	Vitamin C
Glutasyon Redüktaz	Sistein
Katalaz	Ürik asit
Glukoz 6-P-Dehidrogenaz	Vitamin E
	Beta-karoten
	Bilurubin
	Flavonoidler
	Transferin
	Seruloplazmin
	Haptoglobülin
	Albumin
	Hemopeksin
	Ferritin

2.7.1 SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (SOD)

SOD, bir metalloenzimdir. O₂'i metabolize eden bütün hücrelerde bulunur. SOD, O₂⁻ H₂O₂ dönüşümü reaksiyonunu katalizler (61).



SOD, bu reaksiyonda hem oksidan hemde redüktan olarak hareket eder. SOR ile oluşan hasara karşı SOD, katalaz ve glutatyon enzim sistemiyle birlikte çalışan bir savunma mekanizmasıdır. Böylece oluşan H₂O₂, katalaz veya glutatyon peroksidaz enzimleri tarafından su ve O₂'e indirgenmektedir. Peroksit radikalinin dismutasyonu ile oluşan H₂O₂ doku için biyolojik avantaj sağlar. SOD'un görevinin aerobik organizmaları, O₂⁻ zararlı etkilerine karşı korumak olduğu sanılmaktadır. Enzim, hücrede değişik kompartmanlarda bulunmaktadır. Sitozolik enzim, her biri içinde bir ekivalan Cu ve Zn taşıyan birbirine benzer iki alt üniteden meydana gelir. Fakat mitokondriyal enzim, bakterilerde bulunana benzer şekilde sadece manganez (Mn⁺²) içerir. Dismutaz bütün temel aerobik dokularda bulunmaktadır (62).

2.7.2.GLUTATYON

Metabolizmada önemli rol oynayan glutatyon, bir tripeptid (gama glutamil sisteinilglisin) olup birçok hücrede bulunmaktadır. Glutatyon, glutamat, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşur. Glutamat, sisteine gama-karboksil aracılığı ile bağlanır. Molekülün aktif kısmı sisteinin sülfidril grubudur. Gama-glutamil kısmı hücre için stabilizeyi ve peptidazlara direnci sağlamaktadır. Glutatyon, hücre zarında aminoasitlerin taşınmasında rol alır ve koenzim olarak enzim yapısına girer. Proteinlerin sülfidril yapılarını korur, toksik maddelerin etkilerinin ortadan kaldırılmasında rol oynar (63).

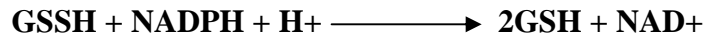
2.7.2.1. GLUTATYON PEROKSİDAZ (GSHpx)

Eritrositlerde ve diğer dokularda, prostetik grup olarak selenyum içeren GSHpx enzimi, indirgenmiş glutatyon tarafından H_2O_2 ve lipid peroksitlerinin parçalanmasını katalize eder; böylece membran lipidlerini ve hemoglobini, peroksidlerin oksidasyonuna karşı korur. Spesifik hidrojen verici olarak glutatyonu kullanır. Peroksi radikallerine afinitesi katalazdan daha fazladır.



2.7.2.2. GLUTATYON REDÜKTAZ

Glutatyon redüktaz, bir flavin enzimidir ve koenzimi NADPH ve prostetik grubu FAD'dir. Hem sitozol hem de mitokondride bulunmaktadır. Okside glutatyon hücreyi antioksidanlara karşı koruyamaz. Hücre, elektron kaynağı olarak NADPH'ı kullanan glutatyon redüktazın katalizlediği bir reaksiyon ile indirgenmiş glutatyonu tekrar oluşturur. NADPH, hidrojen peroksidin indirgenmesinde indirekt olarak elektronları sağlar. Oluşan NAD^+ ise Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enzimi yardımıyla NADPH' a dönüştürülür (63).



2.7.3. KATALAZ (KAT)

Katalaz, dört hem proteini içeren bir hemoproteindir. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranlarda bol miktarda bulunmaktadır. Katalaz, iki H_2O_2 molekülünden birini elektron vericisi, diğerini de elektron alıcısı olarak kullanarak su ve O_2 meydana getirir (64).



2.8. AORT KROS-KLEMPİN SİSTEMİK ETKİLERİ

Aort cerrahisi sırasında aortaya kros klemp (AKK) uygulanması ile klempin distalinde iskemi oluşur. Klempin kaldırılması ve iskemiye uğramış dokularda yeniden dolaşımın sağlanması ile de reperfüzyon hasarı oluşur (65).

Genelde AKK' nin hemodinamik cevabı kalp hızında belirgin artış olmadan sistemik vasküler rezistansda ve arteriyel kan basıncında artış olarak karşımıza çıkar (65). AKK sırasında kardiyak output düşmektedir (66). Dolum basınçlarında değişiklik olmaması veya artışı bu durum ile uyumsuzluk göstermektedir (67).

AKK değişik seviyelerdeki kan dağılımında değişik derecelerde ve farklı özelliklerde etki yapar. AKK seviyesi hemodinamik cevabın şeklini ve şiddetini belirler. Ortalama arter basıncı, dolum basıncı, sistolik veya diyastolik sol ventrikül bölgeleri, ejeksiyon fraksiyonu ve duvar hareket bozuklukları infrarenal AKK de minimal derecede gerçekleşirken supraçölyak seviyede ise ortalama arter basıncı, dolum basıncı ve diyastol sonu ventriküler volümde anlamlı yükselme yapar bu etkiler daha şiddetli olarak meydana gelir (66).

AKK proksimal aortik basıncı artırır ve sonuç olarak vücudun üst yarısında doku-membran gradiyenti artışı intravasküler alandan intersitisyel alana sıvı transferine sebep olur, bu da sistemik vasküler rezistansın artışı ve intravasküler volümdeki azalmayı açıklamaktadır (68).

Abdominal aorta anevrizma operasyonundaki kros-klempteki hemodinamik cevap kros-klemp seviyesindeki aortik kollateral damarların durumuyla ilgili olarak tıkaçıcı aort hastalıklarındaki operasyon sırasındaki hemodinamik cevaptan daha ciddidir (69). Ayrıca bazı araştırmacılar abdominal aort anevrizma tamir operasyonlarında klempin kaldırılmasıyla oluşan hipotansiyonu azaltabilmek için iki kat daha fazla sıvıya ihtiyaç olduğunu bildirmişlerdir. Arteriyel ve kapiller basıncın AKK seviyesinin altında düşük seyretmesi intestinal sıvı absorpsiyonunu artırır (70).

AKK sırasında insanlarda ve hayvan modellerinde renin ve anjiotensin aktivasyonunun arttığı görülmüştür (71). Supraçölyak AKK seviyesinde renin aktivasyonundaki artışı afferent arteriyollerdeki basınç düşüşü ile açıklamak mümkündür. İnfrarenal seviyede ise bu sebepler kolay açıklanabilmiş değildir. Erken postoperatif periyotta plazma renin aktivasyonu ile arteriyel hipertansiyon sırasında bir korelasyon bulunamamıştır (72).

Torasik AKK yüksek konsantrasyonda epinefrin ve norepinefrin salınımına sebep olur (73). Abdominal AKK sırasında ise daha az katekolamin salınımı olmakla beraber klempaj süresince epinefrin ve sonrasında norepinefrin artmaktadır. AKK sırasında sempatik deşarjın etyolojisi kompleks ve multi faktöriyeldir. Bu hipotansiyonda ve şokta, iskemik kalan spinal kord ve adrenal medulla durumlarında görülen bir refleks mekanizmadır. AKK sırasında proksimal kan basıncındaki artış baroreseptörler üzerine etkiyen sempatik aktivasyonla inhibe edilir (74).

AKK sırasında oklüzyon distalinde laktat privat konsantrasyon oranları artmakta, intramuskuler pH ve femoral venöz kan akımı azalmaktadır. Klempaj süresince ve sonrasında kaslarda oluşan metabolik düzensizlik ve hücresel hasar nedeniyle azalan enerji depoları ve kreatin havuzu tekrar kan akımı sağlansa bile iskemi öncesi seviyelerine ulaşmaz. Hipoksik şartlarda ATP metabolizması adenzin, hipoksantin, ksantin oksidaz, pürin ve SOR oluşmasına sebep olur (75). Tavşanda torasik AKK kaldırılması ile plazma ksantin oksidoredüktaz konsantrasyonu 5 kat artmaktadır (76). İnsanda sistemik hipoksantin konsantrasyonu infrarenal AKK kaldırılmasıyla 20 kat artar (77). Hipoksantin, SOR oluşturarak reperfüzyon sırasında hücresel hasara sebep olur (78).

Fyman ve arkadaşları SOD'un torasik AKK açılmasından önce tedaviye eklenmesinin permeabilite artışına bağlı sıvı geçişini minimal seviyeye indirdiğini, sistemik arteriyel basınçta ve pulmoner hipertansiyonda anlamlı düşüş yaptığı ve klemp sonrası kardiyak outputu arttırdığını, artan bradikinin konsantrasyonu ve asit baz dengesizliğini iyileştirdiğini rapore etmişlerdir (79).

Reperfüzyon sırasında O₂ sunumunun azaltılması veya gecikmeli olması reperfüzyon hasarında anlamlı azalmaya sebep olur. Örneğin; iskemi sonrası dokunun ilk perfüzyonu önce anoksik kan ve ardından normooksik kan ile yapmak postiskemik mikrovasküler hasarı azaltmaktadır (80). Azaltılmış oksijen sunumu ile yapılan kas reperfüzyonunda da yine iskemi reperfüzyon hasarında anlamlı düşüşler görülmüştür (81).

AKK kaldırılması sırasında intravasküler volüm kaybının ve sonrasında arteriyel hipotansiyonun aynı zamanda mikrovasküler permeabiliteyi arttıran SOR'lerine bağlı olduğu gösterilmiştir (82).

Reaktif oksijen türleri PMNL'lerden tromboksan stimülasyonu yaparken serbest oksijen temizleyicileri de tromboksan sentezini azaltırlar. Buna rağmen SOR'lerinin prostaglandin mekanizması üzerine etkileri tam anlaşılabilmiş değildir. Çalışmalar tromboksan reseptör antagonistlerinin iskemi sonrası pulmoner permeabilite artışını yavaşlattığını göstermektedir (83).

AKK sonrası prostaglandin konsantrasyonu artar (84). Cerrahi operasyon sırasında barsak eventrasyonu ve mezenter traksiyonu prostasiklin salınımını artırır ve sonuç olarak vazodilatasyon, sistemik vasküler rezistansda düşme, kardiyak outputta azalmaya sebep olur (85).

Aortik cerrahi sonrası kardiyopulmoner komplikasyonlar, iskemik dokudan salınan anaerobik metabolik ürünler ve mikroagregatların etkisiyle ortaya çıkar (86,87). Mikrovasküler permeabilitenin akciğerde artması ile tromboksanın indüklediği nötrofil tuzağı oluşur. PMNL yapışma reseptörü CD18 nötrofil bağımlı pulmoner hasarda iskemi reperfüzyon sonrası önemli rol oynar (88).

Anaflotoksinler birçok organ ve dokuda düz kas kontraksiyonunu sağlayan potent mediatörlerdir; pulmoner arter basıncını, pulmoner vasküler rezistansı ve vasküler permeabiliteyi arttıırırlar (89). Aortik cerrahi sonrası C3a ve C5a gibi anaflotoksinlerinin plazma konsantrasyonları artar (90). Hem C3a hemde C5a mast hücrelerinden histamin, lökositlerden proteaz ve peroksidaz ile tromboksan ve platelet aktivatör faktör salınımına sebep olur (91).

AKK kaldırılması sonrası negatif hemodinamik cevabın oluşmasında miyokardiyal disfonksiyon önemli rol oynamaktadır. Miyokardiyal disfonksiyonun önemli sebeplerinden biri de iskemik dokulardan salınan miyokardiyal depresan faktördür. Özellikle splanik ve pankreatik vasküler yatağın iskemik kalması miyokardiyal depresan faktörün salınımını artırır (92).

İnfrarenal aort anevrizmalarında elektif ve acil onarım sırasında endotoksin konsantrasyonu artışına bağlı permeabilite artışı olur (93,94). Bu permeabilite artışı özellikle enterik iskemi periyodlarında intestinal mukozal bariyerin bütünlüğünün bozulması ve enterik floranın ve lipopolisakkaritlerin mezenterik lenf nodlarına ve portal kan sistemine geçmeleri splenik vazokonstrüksiyona ve bu durumda “Multi Organ Disfonksiyon Sendromu”na zemin hazırlamaktadır (95,96). Multi Organ Disfonksiyon Sendromu akciğer, hepatik, renal, gastrointestinal ve santral sinir sisteminin etkilenmesiyle yetmezlik ve miyokardiyal hücrelerinde disfonksiyonu izleyen bir süreç olarak karşımıza çıkar (97). Multi Organ Disfonksiyon Sendromu bu etkileriyle aortik cerrahi sonrası yoğun bakım ünitelerinde ki 3. en sık mortalite (% 30-40) sebebi olarak karşımıza çıkar (98,99).

Torasik AKK sırasında sol ventrikül diyastolik volüm ve basıncında artışa bağlı pulmoner vasküler rezistans artışı belirgindir (100,101). İnfrarenal AKK de mekanizma tam anlaşılammış olsada muhtemel mikroembolizme bağlı olarak pulmoner arter basıncında ve pulmoner vasküler rezistansda artış gözlenebilir (102,103).

2.8.1. AKK’NİN BÖBREK FONKSİYONLARINA ETKİSİ

Böbrekler aerobik metabolizmanın belirgin olduğu önemli bir organdır. Böbrekler vücut ağırlığının % 1’ini oluşturmasına rağmen, sıvı elektrolit dengesini korumak için vücut oksijen tüketiminin %10’nu kullanırlar (104,105). Kardiyak outputun %20’sini alan böbrekler PMNL ve monositlerin glomerüllere ve interstisyel dokuya infiltrasyonu sonucunda daha çok oksidan strese maruz kalırlar (106). Artmış oksidan stres etkisi ile hücre ve organel membranında lipid

peroksidasyonu meydana gelir ve özellikle proksimal tübül segmentlerinde, tübül yapısı, hücre transport kapasitesi ve enerji üretimi bozulur (107, 108). İskemiden sonra proksimal tübüllerde oluşan belirgin morfolojik değişiklikler, özellikle firçamsı kenarlı membranda baloncuklaşmalar ve laktat dehidrogenaz gibi intrasellüler enzimlerin salınması bu tip anlamlı membran değişikliklerinin sellüler hasar sonucunda meydana geldiğini göstermiştir (109).

Akut alt ekstremite İ/R hasarı sonrası vücutta lokal ve sistemik inflamatuvar bir yanıt ortaya çıkmaktadır. Bu inflamatuvar yanıtta bağlı olarak plazmada artmış proinflamatuvar ajanlarla birlikte (sitokinler, araşidonik asit deriveleri, trombosit aktive edici faktör, kompleman, kinin aktivasyonu), SOR ve PMNL infiltrasyonu, oluşan uzak organ hasarında rol oynayan etkenlerdir. Bu süreç vücutta sepsis, çok, travma ve AKK gibi sistemik inflamatuvar yanıtın oluşmasıyla ‘‘ Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu’’ ve bu durumun devamında gelişen ‘‘ Multi Organ Disfonksiyon Sendromu’’ ile karakterizedir (110, 111). Endotelin prostosiklin salınımı bozulur ve reperfüzyon sırasında prostasiklin tromboksan dengesi bozularak, trombosit agregasyonu artar. Mikrosirklasyonda trombosit agregasyonu sebebiyle tıkanıklılar oluşur ve doku içinde etkin kan dolaşımı sağlanamaz. Bu durum ‘‘no-flow fenomeni’’ olarak adlandırılır (112). Adezyon molekülleri olan ‘Intercellular’ adhezyon molekülü (ICAM), ‘‘Vascular cell adhezyon molekülü’’ (VCAM) ve ‘‘Platelet-endothelial cell adhezyon molekülü’’ (PECAM) salınımı ve bunların integrin adı verilen reseptörler ile birleşmesi trombosit, endotel hücre ve lökositleri uyarır. Lkositlerden lizosomal içeriklerin salınımına neden olarak hücre disfonksiyonu, dem ve hücre ölümüne kadar giden olayları başlatır (113). Çalışmalarda İ/R sonrası ICAM-1 aracılığı ile migrasyona uğrayan PMNL’lerin dokuda SOR salınımı ile hasar oluşturdukları gösterilmiştir (114). Fizyolojik olarak böbrekte glomerül endoteli ve peritblar kapillerde ICAM-1 gösterilebilmektedir (115). Hücre hasarı sırasında renal tübüllerde inflamatuvar cevabın önemli bir göstergesi olan ICAM-1 yükselmesi tespit edilmiştir (116).

İskemi sonrası dokuda 10 dk içinde PMNL sayısı en yüksek seviyesine çıkmakta ve reperfüzyon sonrası 4 dk da normal düzeyine inmektedir (117). PMNL’ler O_2^- , H_2O_2 ve H_2O_2 den HOCl oluşumunu katalizleyen

myeloperoksidaz enzimini salgılar (118). İskemik dokuda aktive olan lökositler reperfüzyonla tekrar dolaşıma katılırlar ve bu aktive olmuş PMNL'ler İ/R bağımlı uzak organ hasarında etkin rol oynarlar (119). TNF- α , interlökin 1, interlökin 8 ve interferon-gama gibi pro-inflamatuar sitokinler insan böbreği mezenşimal hücrelerinde PMNL adezyonunu tetiklemektedirler (120). Bu konuda tam bir ortak görüş oluşmasa da (121), bu mekanizma iskemi ve renal reperfüzyonda uzak organ hasarının oluşmasında en önemli yol olarak karşımıza çıkmaktadır (122). Alt ekstremitte İ/R deney modellerinde miyoglobulin birikimi olan renal tübüllerde ICAM-1 in arttığı bulunmuştur. Bu da bize miyoglobinin ile beraber görülen akut tübüler nekrozun, adhezyon moleküllerine bağlı PMNL infiltrasyonu ile oluştuğunu düşündürmektedir (123).

Aortik cerrahide renal hasarın oluşmasında en önemli rolü İ/R hasarı oynar. AKK renal vasküler direncin önemli oranda yükselmesine ve renal kan akımının % 30 oranında azalmasına sebep olur. Renal hemodinamik bozulma AKK nin açılmasından sonra da devam eder (124). AKK sonucundaki bu değişikliklerin temelinde PMNL aktivasyonu ve mediatör salınımı olarak karşımıza çıkan nörohumoral mekanizma vardır ancak renal arter kros-klempinde etkiler aynı boyutta değildir. Böbreklerdeki kan akımının düzensizleşmesi ile ortaya çıkan renal kortikal kan akımındaki azalma klempin kaldırılmasından sonraki 60 dakikalık süre içinde de devam eder. Renal kan akımındaki azalmalar ve kan akımının dağılımındaki değişiklikler geçici glomerüler filtrasyon hızı (GFR) azalmasına sebep olur (125). Bu azalmanın derecesi kardiyak output ile veya ortalama arteriyel basınç ile korele değildir (126).

AKK sonrasındaki hemodinamik sistem patogeneğinde renin-anjiyotensin sisteminin etkileri belirgindir (127). Anjiyotensin II'nin temel etkisi, direkt (proksimal ve tübular) veya indirekt (aldosteron üretiminde artış) olarak renal vasküler rezistans artışı ve Na⁺ reabsorpsiyonudur. Kros-klempin kaldırılması sonrası anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri ile tedavi bu tip hastalarda renal kan akımının ve GFR'nin tamamıyla eski seviyesine geri dönüşümünü sağlayabilir ancak hayvanlardaki kontrol çalışmaları bu oranın yaklaşık % 50 olduğunu göstermektedir (128). ACE inhibitörleri verilen denek

hayvanlarında kontrol gruplarına göre renal kan akımı kros-klemp süresince düşükken klempin kaldırılması sonrası yükselme göstermektedir (129). Diğer bir deyişle ACE inhibitörlerinin koruyucu etkisi kros-klemp sırasında olmasa bile sonrasında ortaya çıkmaktadır.

Sempatik sinir sistemi aktivasyonu AKK sırasında GFR düşmesinde anlamlı role sahip değildir (130). AKK sırasındaki kortikal iskemi beta adrenerjik agonistlerle geri döndürülebilir. Endotelin gibi diğer mediatörler de plazma konsantrasyonlarının anlamlı bir şekilde artışı ile renal vazokonstriksiyon ve GFR'de önemli rol oynamaktadır. Kalsiyum kanal blokeri olan Nifedipin, endotelinin renal vasküler yataktaki vazokonstriksiyon etkilerini önler (131). İskemik alt ekstremitelerden salınan miyoglobulin böbrekte nitrik oksit üzerine inhibisyonla renal vazokonstriksiyona ve kan akımının azalmasına sebep olur (132). Gözlenen GFR'deki geçici azalma kaçınılmaz kötü sonuçlara sebep olmamakta, hatta bunu enerji ve O₂ ihtiyacının azaltılması için glomerüler filtrasyon ve tübüler reabsorpsiyon hızının azaltılması ile ortaya çıkan renal bir hipoperfüzyon cevabı olarak düşünebiliriz (133).

İnfrarenal aorta cerrahisinde hemodiyaliz gerektiren renal yetmezlik insidansı % 5'dir (134). Suprarenal aort cerrahisinde ise bu oran % 17 gibi yüksek düzeyler ulaşmaktadır (135). Torasik aortaya kros-klemp yerleştirilen hastalarda ise renal komplikasyon oranı % 51'lere kadar yükselmektedir. Renal yetmezlik hemen her zaman akut tübüler nekrozun sonucudur (136). İnfrarenal aortik rekonstrüktif cerrahi geçiren hastalarda cerrahiden altı ay sonra bile renal plazma akımı ve GFR hala anlamlı biçimde düşüktür (137).

Torasik aortanın kros-klempinde ise renal akım düşüşlerinde, GFR ve idrar çıkışında % 85-94'lere varan ciddi azalmalar oluşur (138).

Renal arterlerin deneysel klemplenme modellerinde, renal kan akımı tıkanıklığın giderilmesi sonrasında kısa sürede geri dönerken, torasik aortada klempin kaldırılması sonrasında uzamış renal akım ve GFR düşüklüğü görülmektedir (139).

AKK süresince oluşan İ/R hasarı üzerine operasyon süresince kullanılan ya da endojen bulunan birtakım maddelerin olumlu ya da olumsuz etkileri mevcuttur. Anestezik maddeler AKK sırasında renal yetmezlik patogenezinde önemli role sahiptirler. İ/R süreci boyunca hemodinami, hormon ve mediatör salınımı üzerine etkileri nedeniyle önemlidirler. Örneğin halotan, isofluran'a göre aynı etki dozunda daha ciddi renal yan etkiye sahiptir (140), bunun en önemli sebebi halotan'ın kardiyak outputu ve renal kan akımını daha ciddi oranda düşürmesidir.

Mannitol infrarenal AKK süresince renal akımdaki düşüşü engeller (141). Buna rağmen klempin kaldırılması sonrası mannitol, dopamin veya her iki ilaç birden renal kan akımının normal fizyolojik sınırlara dönmesine etki etmemektedirler (142). Bazı araştırmalarda da mannitol veya dopaminin infrarenal AKK sırasında renal fonksiyonlar üzerine yararlı etkileri olmadığı ileri sürülmüştür (143). Ancak diüretiklerin İ/R hasarını önlemede hastada daha önceden renal yetmezliğinin mevcut olup olmaması önemlidir. Diüretikler, tübüler reabsorpsiyonu ve O₂ ihtiyacını azaltarak iskemi hasarında etkili olurlar (144), ve klinik çalışmalar bu etkinin oluşabilmesi için yüksek doz diüretik uygulanmasını önermektedirler (145). Diüretik tedavisinde dikkat edilecek bir diğer faktör diüretiklerin sıvı ve elektrolit kaybının takibini ve replasmanını zorlaştırdığıdır. Eger sıvı replasmanı yeterince yapılmazsa diüretiklerin yarardan çok zararları ortaya çıkar (146).

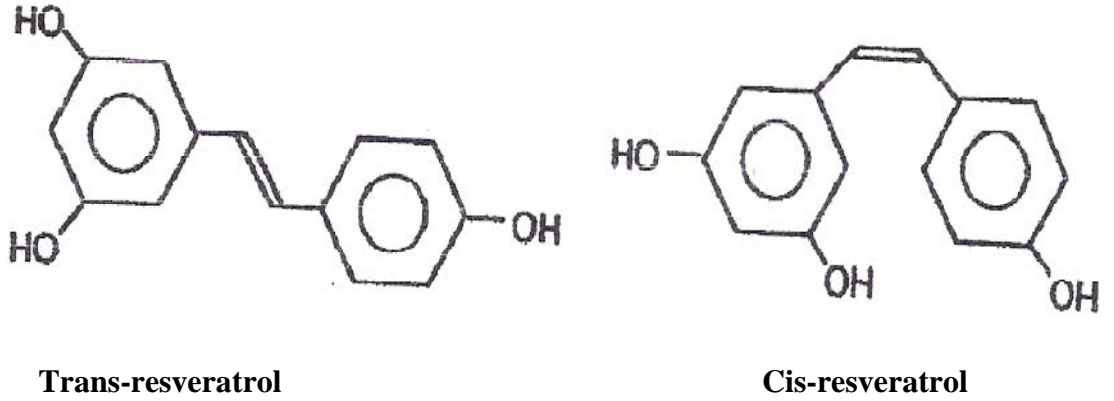
İnfrarenal aorta cerrahisi sonrası yeterli düzeyde sıvı tedavisi renal komplikasyonların azalmasında önemlidir (147). Bu etki muhtemelen intravasküler sıvı miktarındaki artışa bağlı vazokonstriksiyon mekanizmalarının inhibisyonuna bağlıdır (148).

NO normal olarak endotel hücreleri ve düz kas hücreleri tarafından salgılanan bir moleküldür. NO normal şartlarda salınarak endotel için koruyucu bir rol üstlenmesine karşılık AKK sırasında uyarılan endotelden salınarak inflamatuvar süreç aktivasyonu ve artmış endotel permeabilitesine yol açabilir (149, 150). İnfrarenal AKK'yi takiben NO artışı olmakta ve bunun faydalı ve zararlı etkileri görülebilmektedir. NO, İ/R hasarı sırasında üretilen endotelin,

anjiotensin ve tromboksan gibi vazokonstürktör etkili endojen maddelerin zararlı etkilerini nötralize eder ve PMNL'lerin endotel adezyonunu önlemektedir (151). Ancak infrarenal AKK sırasında çok fazla artan NO, böbrekte hücre hasarına sebep olan ONOO⁻ ve OH⁻ iyonları gibi SOR artışına sebep olur (152).

2.9. RESVERATROL

Resveratrol; 3, 4', 5 trihidroksistilben ve 3, 4', 5 stilbenetriol adları ile bilinir. Cis- ve trans- izomerik formlarında bulunur, ancak cis-izomeri üzüm ekstrelerinde bulunamamıştır. Resveratrol viniferinler isimli polifenol ailesinin ana molekülüdür (Şekil III).



Şekil III : Resveratrol'ün kimyasal yapısı.

Resveratrol'ün molekül formülü C₁₄H₁₂O₃'tür ve molekül ağırlığı 228,25 daldondur. Resveratrol en çok siyah üzüm kabuğunda bulunmakla beraber üzüm meyvesinde ve yaprak saplarında, kökte, çekirdekte, yerbıstığında, kırmızı şarapta, yaban mersininde, dut meyvesinde ve "Polygonum cuspidatum" bitkisinin kök ve gövdesinde bulunur (153).

Resveratrol'ün doğal antioksidan rolü üç farklı antioksidan mekanizma ile açıklanmaktadır. Bunlar, koenzim Q ile yarışmak ve SOR oluşum yerinde oksidatif zincir kompleksini azaltmak, mitokondride oluşan O₂⁻ radikalini yakalamak, fenton reaksiyonu ürünleri tarafından indüklenen lipid

peroksidasyonunun inhibe etmektedir. Birçok çalışmada resveratrol'ün hem O_2^- hem de OH^- radikalini yakalama yeteneğinin olduğu gösterilmiştir. Ancak bu özellik diğer pek çok güçlü antioksidandan daha zayıftır. Resveratrol in vitro koşullarda SOR'un zayıf yakalayıcısı olmasına rağmen in vivo olarak güçlü bir antioksidan işlevini görür. Resveratrol'ün in vivo antioksidan özelliği NO sentezini artırma yeteneği ile güç kazanmaktadır. Resveratrol biyolojik sistemlerde bulunan antioksidanların hücre içi konsantrasyonlarının sürdürülmesini de sağlamaktadır (154). Resveratrol'ün H_2O_2 ile aktive olan insan lenfositlerinde glutatyon miktarını arttırdığı gösterilmiştir. Başka bir çalışmada da insan lenfositlerinde resveratrol'ün GSH px, glutatyon redüktaz ve glutatyon-S-transferaz gibi glutatyon metabolizması ile ilgili enzimlerin miktarını arttırdığı gösterilmiştir (155).

2.9.1. RESVERATROL'ÜN BİYOSENTEZİ

Resveratrol biyosentezini stilben sentaz enzimi kataliz eder. Resveratrol bitkiler tarafından strese yanıt olarak üretilir ve normalde fazla miktarda üretilmez. Resveratrol'ün biyosentezi *p*-kumarol-CoA'nın *p*-kumarol kalıntısı ile malonil-CoA'dan 3 adet C-2 alt ünitesinin dekarboksilasyonu ile kondensasyon sonucu oluşur. Daha ileri reaksiyonları resveratrol'ün bifenolik halkasının 3. pozisyonunda glikozil ya da sülfat kalıntıları ile konjuge olmasıdır (156).

2.9.2. RESVERATROL'ÜN EMİLİMİ

Resveratrol'ün büyük kısmı jejunumdan, az kısmı ileumdan emilir. Bazolateral tarafa transport edilen resveratrol'ün çoğu, glukuronid ve sülfat formlarına konjuge edilir. Tüm perfüze edilen resveratrol'ün ve konjugatlarının yalnızca % 6'sı barsak epitelini geçmektedir (157).

2.9.3. RESVERATROL'ÜN DOKULARA TAŞINMASI

Resveratrol'ün hidrofilik konjuge hale gelmesi kana geçişini, vücutta dağılımını ve ekskresyonunu kolaylaştırır. Resveratrol ve metabolitleri karaciğer

ve safra kesesi tarafından kandan filtre edilerek safra ile barsaklara atılır. Daha sonra geri emilime uğrar. Resveratrol oral yolla alındıktan kısa süre sonra kolonda bulunur. Ancak dokulara dağılımı birkaç saat alır. Resveratrol karaciğerde glukuronatlanır, karaciğer ve duodenumda sülfatlanır. Sülfatla konjugasyon resveratrol'ün biyoyararlanımında hız sınırlayıcı basamaktır. Diyetle alınan oral dozun % 70'i plazmada resveratrol ve konjugatları şeklinde tepe noktaya erişir; yarı ömrü dokuz saattir. Değişmemiş resveratrol eser miktarda plazmada saptanır (158).

2.9.4. RESVERATROL'ÜN ATILIMI

Atılım zamanı plazmada bulunan resveratrol'ün konsantrasyonuna bağlıdır. Üretilen miktar ile atılan miktar arasında ilişki yoktur. Çok küçük miktarda glikozile olmayan resveratrol idrarda bulunur. Böbrekte başlıca doğal formda bulunurken, idrarda konjuge formu büyük çoğunluktadır (159).

2.9.5. RESVERATROL'ÜN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ

2.9.5.1. Antioksidan Aktivite

2.9.5.2. Trombosit Agregasyonunun İnhibisyonu

2.9.5.3. Östrojenik Aktivite

2.9.5.4. Anti-Kanser Aktivite

2.9.5.5. Vazorelaksan Aktivite

2.9.5.6. Anti-inflamatuvar Aktivite

2.9.5.7. Anti-apoptotik Aktivite

2.9.5.1. Antioksidan Aktivite

LDL özelliklerinin çoklu-doymamış yağ asitleri ile değiştirilmesi aterosklerozda önemli rol oynar (160). Oksidasyon, LDL partiküllerinin, apo B proteinin içeriğini değiştirerek, apo B/E reseptör sistemi tarafından katabolizmasını engeller. Böylece fenolik bileşiklerce zengin yiyeceklerin koruyucu özellikleri antioksidan özelliklerine bağlanmıştır. Frankel ve

arkadaşları, LDL'ye trans-resveratrol eklenmesinin bakırın katalize ettiği oksidasyonu azalttığını göstermişlerdir (161). Resveratrol etkisini esas olarak bakırla şelasyon yaparak göstermektedir (162). Resveratrol'ün her iki izomerinin de eşit oranda serbest radikal süpürücü etkisi vardır ancak cis- izomerinin şelat yapma kapasitesi, trans- izomerinin yarısı kadardır. Resveratrol, membran lipidlerinin peroksidasyonunu inhibe eder, LDL'nin apo B proteinini okside etmesini önler ve apo B'nin intraselüler konsantrasyonlarını azaltır (163). Kolesterol sentezinin hız kısıtlayıcı basamağı olan monooksijenazı inhibe ederek kolesterol biyosentezini azaltır (164). Resveratrol, hücre membranlarını koruyarak yaşayan hücrelerde oksidatif stresin zararlı etkilerini azaltmaktadır (160). Chanvitayapongs ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada resveratrol'ün antioksidan ve antimutajenik özelliklerinin yanında hücre ölümünü de azalttığı gösterilmiştir (165). Endotelial hücrelerde TNF- α ile indüklenen ICAM-1, VCAM-1 ve TF gen ekspresyonlarını azaltır (166). Resveratrol'ün, NF κ B aktivasyonunu önleyerek endotoksinle indüklenen inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir. NF κ B aktivasyonu, eNOS'un lipopolisakkarit tarafından indüklenmesi için gereklidir (167).

2.9.5.2. Trombosit Agregasyonunun İnhibisyonu

Trombosit agregasyonu, araşidonik asitten sentezlenen eikozanoidlere bağlıdır. Siklooksijenaz yolağıyla güçlü bir vazodilatör ve trombosit agregasyonunu inhibe edici bir madde olan PGI₂ ve güçlü bir agregan ve vazokonstriktör olan TxA₂ sentezlenir. Ayrıca lipooksijenaz yolağıyla hidroksiasitler ve lökotrienler üretilir. Kimura ve arkadaşları, resveratrol'ün lipooksijenaz ürünleri ve TxB₂ üretimini inhibe ettiğini göstermişlerdir (160). Bir başka deyişle resveratrol hem lökosit hem de trombositlerde araşidonik asit metabolizmasını inhibe eder.

2.9.5.3. Östrojenik Aktivite

Resveratrol, östrojen reseptörüne bağlanarak onu aktive eder ve bu yüzden fitoöstrojen olarak da bilinmektedir. Trans-resveratrol ve dietilstilbestrol yapıca benzer (160).

2.9.5.4. Anti-Kanser Aktivite

Japonya'da *Yucca schidigera* ekstresi, bakteri hücrelerinde antimutajenik etki göstermiş ve ekstredeki resveratrol'ün hidroksil gruplarının bu etkiden sorumlu olduğu belirtilmiştir. Resveratrol'ün, karsinojenlerin detoksifikasyonu, hücre farklılaşmasının indüklenmesi, arilhidrokarbonları genotoksik metabolitlere metabolize eden enzimlerin inhibisyonu ve arilhidrokarbon reseptör antagonizması, lösemi hücrelerinde ribonükleotid redüktaz inhibisyonu, p53 ve p21^{WAF1/CIP1} tümör baskılayıcı gen proteinlerinin artışı, hücre siklusunun S ve G₂ aşamalarında durdurulması, siklooksijenaz-2 inhibisyonu gibi çeşitli antimutajenik özelliklerini vurgulanmıştır (160, 168, 169).

2.9.5.5. Vazorelaksan Aktivite

Resveratrol'ün vazodilatasyon etkisinin mekanizmaları halen araştırılmakla birlikte, bu etki araşidonik asit metabolizmasının inhibisyonuna ve NO sentezinin indüksiyonuna bağlanmıştır (170). Vasküler endotel, arter duvarının fizyolojik fonksiyonlarını sürdürmesinde, vasküler tonusun ayarlanması gibi, hayati öneme sahiptir (171). Endotelyal hücreler NO ve endotelin gibi vasküler düz kaslara etki ederek arteriyal damar tonusunu ayarlayan vazoaktif maddeler sentezler. Çeşitli mediatörler ve hormonlar (asetilkolin, bradikinin, insülin) ile aktivitesi arttırılabilinen NOS'a endotel cevabının ateroskleroz, obesite, tip II diabet, hipertansiyon ve hiperkolesterolemide bozulduğu gösterilmiştir (171). L-nitro arjinin metil esteri (L-NAME) ile resveratrol-bağımlı vazorelaksasyonun önlenmesi, resveratrol'ün endotelden NO salınımı yoluyla etkisini gösterdiğini göstermiştir (171). Naderalı ve arkadaşlarının domuzlarla yaptığı çalışmada, noradrenalin veya potasyum klorür ile kastırılmış arterlerde resveratrol'ün doz-bağımlı olarak hem rezistans hem de konduktan arterlerde vazodilatasyon yaptığı ancak rezistans damarlarda bu etkinin daha belirgin olduğu gösterilmiştir (170). Resveratrol'ün vasküler etkilerinin hem endotel-bağımlı (düşük resveratrol konsantrasyonlarında belirgindir ve NOS inhibitörleri (L-NAME) ile bloke edilebilir.) hem de endotel-bağımsız (yüksek resveratrol konsantrasyonlarında açığa çıkar ve NOS inhibitörleri veya endotel hasarı ile bloke edilemez.) olduğu

düşünülmektedir (170). Endotel-bağımsız mekanizmada, resveratrol'ün vazodilatör etkileri olan cAMP ve cGMP yıkımını inhibe etmesi ve guanilil siklaz aktivasyonu öne sürülmüştür. Endoteli alınmış aort parçalarında siklik nükleotid fosfodiesteraz inhibitörlerinin dilatasyonu indüklemesi bu fikri doğurmuştur (170). Resveratrol'ün ayrıca düz kas hücre membranı ile bir membran reseptörü veya kalsiyum kanalları yoluyla, birleşerek vazorelaksan aktiviteyi indüklediği öne sürülmüştür (172).

2.9.5.6. Anti-inflamatuvar Aktivite

İskemik bir kalpte resveratrol'ün kardiyoprotektif özelliği onun anti-inflamatuvar fonksiyonundan kaynaklanmaktadır. Resveratrol ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, resveratrol'ün miyokardiyal enfarkt büyüklüğünü azalttığı ve iskemi sonrası ventriküler fonksiyonda önemli iyileştirmeler yaptığı gözlenmiştir. Resveratrol ile muamele edilen grupta proadezif moleküllerde [hücre içi adezyon molekül-1 (sICAM-1), endotelial lökosit adezyon molekül-1 (sE-Selectin) ve vasküler hücre adezyon molekül -1 (sVCAM-1)] reperfüzyon esnasında önemli bir azalma gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda NO blokeri L-NAME, resveratrol'ün yararlı etkilerini tamamen giderdiği gözlenmiştir. Bu sonuçlar resveratrol'ün anti-inflamatuvar etkisini NO'ya bağlı mekanizma aracılığı ile gerçekleştirdiğini desteklemektedir (172, 173, 174).

2.9.5.7. Anti-apoptotik Aktivite

Resveratrol kalbi korumada antiapoptotik sinyali indüklemektedir. Resveratrol'ün iskemik-reperfüze kalpte apoptotik kardiyomiyositleri azalttığı gösterilmiş ve anti-apoptotik etkileri desteklenmiştir (173). Resveratrol oksidatif stresin indüklediği apoptotik hücre ölümünü önleyerek ve H₂O₂ yakalayarak vasküler oksidatif strese direnci arttırmaktadır. Resveratrol, H₂O₂ ile oluşan apoptotik hücre ölümündeki artışa karşı endotel hücrelerini korur ve damarların oksidatif strese direncini artırır (175).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan (AKÜHADYEK) onay alındıktan sonra (25/02/2009,B.30.2.AKÜ.0.8Z.00.00/16), Kobay Deney Hayvanları laboratuvarı A.Ş. den elde edilen erkek, sağlıklı, Winstar Albino cinsi ratlar, kullanılarak gerçekleştirildi. Ratlar deney öncesi tel kafeslerde 12 saat gece 12 saat gündüz sirkadiyen ritimde, ortam sıcaklığı 20-26°C olacak şekilde tutuldular. Deneyden 12 saat önce, su hariç beslenmeleri durduruldu. Tüm ratların bakımı, Tıbbi Araştırmalar Ulusal Derneği tarafından biçimlendirilen 'Deney Hayvanlarının Bakım Prensipleri'ne ve Laboratuvar Hayvanı Kaynakları Enstitüsü tarafından hazırlanıp Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından yayınlanan 'Laboratuvar Hayvanlarının Bakım ve Kullanımı için kılavuz'una (NIH basım no.85-23, 1985 revize edildi) uygun olarak yapıldı. Her grupta 8 rat olmak üzere randomize olarak 4 grup oluşturuldu. Oluşturulmuş olan bu gruplar 7 gün süreyle beslenme programına alındı.

Grup 1 (Sham); 7 gün boyunca resveratrol içeriği yüksek olduğu bilinen gıdalar dışındaki beslenme ürünleriyle oral yoldan beslenen, sadece anestezi verilerek karın eksplorasyonu yapılan ve abdominal aortaya kros klemp konulmadan çalışma grupları için öngörülen deney süresi boyunca izlenen grup.

Grup 2 (İ/R); 7 gün boyunca resveratrol içeriğinin yüksek olduğu bilinen gıdalar dışında oral yolla beslenen ve infrarenal abdominal aortaya klempaj uygulanarak İ/R modeli oluşturulan grup.

Grup 3 (Düşük doz resveratrol Gurubu); 7 gün boyunca grup 1 ve 2' deki oral alımlarına ek olarak orogastrik lavaj ile 40 mg/gün resveratrol (Sigma Aldrich Chemie 500 mg USA) ile beslenen ve aortik İ/R modeli oluşturulan düşük doz resveratrol grubu.

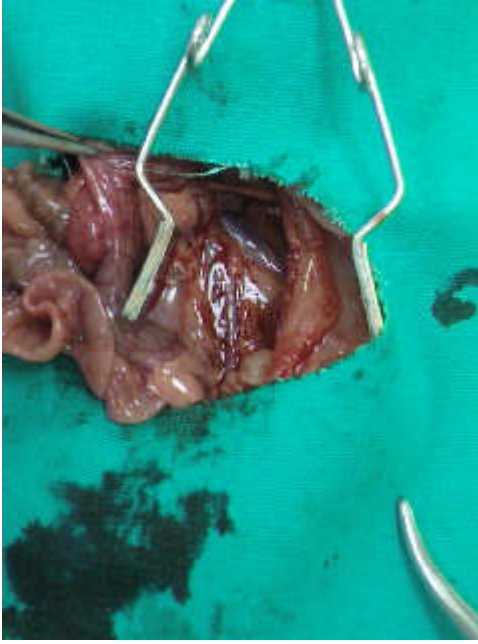
Grup 4 (Yüksek doz resveratrol Gurubu); 7 gün boyunca grup 1 ve 2' deki oral alımlarına ek olarak orogastrik lavaj ile 60 mg/gün resveratrol ile beslenen ve aortik İ/R modeli oluşturulan yüksek doz resveratrol grubu.

3.1. ANESTEZİ ve CERRAHİ YAKLAŞIM

Cerrahi işlemden 12 saat önceden itibaren aç bırakılan ratlar, 5 mg/kg Xylazine (Rompun, Bayer, Almanya) intraperitoneal yoldan verilerek yapılan premedikasyondan 5 dakika sonra, ketamin 40 mg/kg (Ketalar flakon, Pfizer, İsviçre) intraperitoneal yoldan verildikten sonra uyutularak ekstremitelerinden ameliyat masasına bağlandı. Batın tıraş edilip, povidone-iodine solüsyonu (Polyod, Drogasın, Türkiye) ile silindikten sonra steril koşullarda örtülerek median laparotomi yapıldı (Resim I). Bağırsaklar sağa doğru dışarı alındı (Resim II). Retroperitona ulaşılarak abdominal aortanın üzeri açıldı. Abdominal aort sol renal venin altından dönülüp askıya alındıktan sonra 150 Ü/kg heparin Na (Nevparin, Mustafa Nevzat, Türkiye) kuyruk ven yoluyla verilerek antikoagülasyon sağlandı. Heparin verildikten sonra infrarenal abdominal aortaya de bakkey mikrovasküler klemp konuldu. 60 dakika boyunca total aortik oklüzyon sağlandı (Resim III). Bu esnada ısı ve sıvı kaybını engellemek amacıyla ıslak steril örtü ve intraperitoneal 10 ml ılık % 0,9 serum fizyolojik uygulandı. Süre sonunda klemp kaldırılarak reperfüzyon başlatıldı. Reperfüzyon arter vurumlarının tekrar belirmesi ve klemp distalinde manuel olarak nabzın alınması ile kontrol edildi. Tüm deneklerde heparinin etkisini nötralize etmek için 1 mg/kg kuyruk ven yoluyla protamin (protamin sülfat, Sanofi-Synthelabo, Türkiye) uygulandı. Kanama kontrolünü takiben bağırsaklar içeriye yerleştirilerek batın kapatıldı ve ratlar 120 dakika süreyle reperfüzyon sürecine alındı (Resim IV). Reperfüzyonun ardından median laparotomi sütürler alınarak tekrar açıldı. Vena Cava İnferyordan kan örnekleri heparinli tüplere alındı. Ardından her iki böbrek eksize edildi. Çevre yağ dokusu temizlenerek yüzeyleri serum fizyolojik ile yıkandı. Sağ böbrek biyokimyasal incelemeler için epandorf tüplere konularak -80°C de saklandı. Sol böbrek histopatolojik inceleme için % 10' luk formaldehite konuldu. Ardında letal thiopental dozu ile sakrifikasyon işlemi yapıldı (Resim V). Cerrahi işlem süresince denekler oda havasında solutuldu.



Resim I : Batın bölgesinin traş edilerek povidone-iodine solüsyonu ile temizlenmesi.



Resim II: Median laparotomi yapılarak bağırsakların sağa doğru dışarı alınması ve retroperitona ulaşarak abdominal aortanın üzerinin açılması.



Resim III: İnfrarenal abdominal aortaya mikrovasküler klemp konularak 60 dakika boyunca total aortik oklüzyonun sağlanması.



Resim IV: Deklempaj sonrası kanama kontrolünü takiben bağırsaklar içeriye yerleştirilerek batının kapatılması ve ratların 120 dakika süreyle reperfüzyon sürecine alınması.



Resim V: Sağ böbreğin biyokimyasal tetkikler, sol böbreğin histopatolojik incelemeler için alınması.

3.2. DOKU ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI

Rat böbrek doku örnekleri pH'sı 7,4 olan fosfat tamponu kullanılarak (1g doku + 9ml tampon) IKA (K-Ultra Turrax Basic) T 18 model homojenizatör ile buz banyosu içerisinde homojenize edildi ve UP50 H ultraschall prosesor (TUV Berlin Brander GS) model sonikatör kullanılarak sonike edildi. Homojenatlar 5000 rpm'de +4°C de 10 dakika santrifuj edildi. Santrifuj sonrası süpernatantlar numune olarak kabul edildi. Süpernatanttan Fluka Protein Quantification Kiti (Sigma Aldrich Chemie GmbH, Japan) ile protein düzeyleri, TNF- α , MDA düzeyleri ve GSHpx ve SOD aktiviteleri ölçüldü. Sonuçlar TNF- α , MDA ve GSHpx için g protein, SOD için mg protein başına verildi.

3.3. PLAZMA-ERİTROSİT SÜSPANSİYONU ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI

Kan numuneleri antikoagulan içeren tüplere alındı ve 3000 rpm'de 10 dakika santrifuj edildi. Santrifuj sonrası üstte kalan plazma ependorf tüplerine alınıp analiz edilinceye kadar -20°C'de saklandı. Ardından eritrositler % 0,9 'luk NaCl solusyonu ile 3 defa yıkandı. Her yıkama sonrası 3000 rpm'de 10'ar dakika santrifuj edildi. Her santrifuj sonrası süpernatant aspire edilerek atıldı. Hazırlanan eritrosit paketi ependorf tüplerine alınıp analiz edilinceye kadar -20°C'de saklandı. Plazmadan TNF- α , MDA, Cystatin-C, BUN ve kreatin düzeyleri çalışıldı. Eritrositlerden hemolizat hemoglobin tayini yapıldı ve GSHpx ve SOD aktiviteleri ölçüldü. Sonuçlar U/g Hb olarak verildi.

3.4. DOKU-PLAZMA-ERİTROSİT SÜSPANSİYONU ÖRNEKLERİNDE BİYOKİMYASAL İNCELEMELERİN YAPILMASI

Hemolizat Hemoglobin Tayini:

Prensip: Drapkin çözeltilisinde bulunan ferrisiyanür Hb 'deki +2 değerlikli demiri (ferro=Fe⁺²) +3 değerlikli demire (Ferrik=Fe⁺³) çevirerek methemoglobine

dönüştürür. Sonra potasyum siyanür ile birleşerek stabil bir molekül olan siyanmethemoglobin meydana gelir. Siyanmethemoglobinin 540 nm’de ölçülen absorbanı hemoglobin ile doğru orantılıdır.

Drapkin Reaktifi:

Sodyum bikarbonat(NaHCO_3) %1

Potasyum ferrisiyanür($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$)%0,2

Potasyum siyanür (KCN) %0.05

Distile Su 200 ml

Buzlu Su 1000 ml

Prosedür

Hazırlanan hemolizattan 10 µl bir tüpe alındı. Üzerine drapkin reaktifinden 3 ml eklendi ve tüpler iyice çalkalanıp 15 dakika oda ısısında bekletildi. Standart olarak kontrol kanı, kör olarak drapkin çözeltisi kullanılarak tüm örnekler 540 nm dalga boyunda ölçüldü.

TNF – α Ölçümü

TNF- α ölçümü için DIAsource marka Rat TNF- α ticari ELISA kiti kullanıldı. (DIAsource ImmunoAssays S.A.-Rue de l’Industrie, 8-B-1400 Nivelles-Belgium). Absorbans okuması Trinity Biotech Captia Reader cihazında yapıldı. (Trinity Biotech PLC, Bray CO. Wicklow, IRELAND).

SOD

SOD aktivitesi ölçümü Randox-Ransod marka Superoxide Dismutase Assay Kit ile yapıldı (Randox Laboratories LTD. Ardmore, United Kingdom). Absorbans ölçümü Shimadzu UV-1601 model UV-Visible spektrofotometre cihazında yapıldı.

GSHpx

GSHpx aktivitesi Randox-Ransel marka GSHpx ticari kiti kullanılarak ölçüldü (Randox Laboratories LTD. Ardmore, United Kingdom). Absorbans ölçümü Shimadzu UV-1601 model UV-Visible spektrofotometre cihazında yapıldı.

Cystatin-C

Cystatin-C ölçümü için BioVendor marka Rat Cystatin-C ticari ELISA kiti kullanıldı (BioVendor Laboratorni Medicina, a.s. 66442 Modrice Czech Republic). Absorbans okuması Trinity Biotech Captia Reader cihazında yapıldı.

MDA

MDA ölçümü için Northwest marka ticari MDA ticari kiti kullanıldı (Northwest Life Science Specialties, LLC, 5131 NE 94th Avenue, Suite 201 Vancouver). Absorbans ölçümü Shimadzu UV-1601 model UV-Visible spektrofotometre cihazında yapıldı.

BUN, Üre, Kreatinin

BUN, kreatinin ölçümü Siemens Advia 1200 marka otoanalizörde Siemens reaktifleri kullanılarak ölçüldü, ölçülen BUN değerlerinden üre değerleri hesaplandı (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Tarrytown, NY 10591-5097 USA).

3.5. DOKU ÖRNEKLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

Histopatolojik inceleme için doku örnekleri % 10'luk formaldehitde 24 saat fikse edildi. Örneklerin tümü doku takip cihazında (Shandon Patcenter) rutin takibe alınarak parafin bloklar hazırlandı. Bu parafin bloklardan mikrotom (Leica

Rotary) ile her doku örneği için seri kesitler hazırlanarak, Hemotoksilen-Eozin boyası ile boyandı. Hazırlanan preparatlar gruplara kör olan tek bir patolog tarafından, ışık mikroskobunda (Nikon UFX-IIA, Japan) incelendi.

Kesitlerin mikroskopik incelemesinde görülen değişiklikler her bir kesitte 0 dan 3 e kadar skorlandı; normal histoloji: 0, kesitte görülen proksimal tübül hücrelerinin 1/3'ünden azında, tübül epitel hücrelerinde şişme, epitel hücrelerinde çizgili kenar kaybı, nükleer piknoz, sitoplazmik eozinofili, nükleus kaybı, hücrelerde dökülmenin görülmesi:1, değişikliklerin tübüllerin 1/3'ünden fazla 2/3'ünden azında görülmesi:2, değişikliklerin tübüllerin 2/3'ünden fazlasında görülmesi:3 puan olarak değerlendirildi (176).

3.6. BİYOKİMYASAL ve HİSTOPATOLOJİK SONUÇLARIN İSTATİSTİKSEL ANALİZİ

Sürekli veriler ortalama \pm standart sapma olarak sunuldu. Gruplar arasındaki farklılığı saptamak için verilere ANOVA testi uygulandı. Farklı olan grubun saptanması için ise post hoc testlerinden Tukey testi kullanıldı. Yüzdelerin karşılaştırılmasında ise ki-kare testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

IV. BULGULAR

4.1 BİYOKİMYASAL BULGULAR

Plazma MDA değerleri İ/R gurubunda diğer guruplara göre anlamlı derecede yüksek ($p<0.001$), kontrol gurubu ile düşük ve yüksek doz resveratrol gurupları ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu (Tablo II).

Plazma TNF- α değerlerinde bütün guruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık yoktu ($p=0.258$) (Tablo II).

Plazma BUN, üre, kreatinin değerleri İ/R gurubunda diğer guruplara göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksekti, düşük ve yüksek doz resveratrol gurupları arasında istatistiksel açıdan farklılık yok, kontrol gurubuna göre deney gurubunda anlamlı derecede yüksek, İ/R gurubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.001$). (Tablo II).

Plazma Cystatin-C değerlerinin İ/R gurubunda diğer guruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu ($p<0.001$), diğer guruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı saptandı (Tablo II).

Tablo II : Plazmada ölçülen biyokimyasal parametrelerin sonuçları.

	Grup 1	Gurub 2	Gurub3	Gurub 4	P değeri
Cystatic-C (ng/ml)	818.4±97.4	1922±709.9 ^a	1055±269.8	1096±517.1	<0.001
MDA (mikromolar)	6.8±0.9	9.3±1.7 ^a	7.1±1.9	6.3±1.5	<0.001
TNF- α (pg/ml)	96.6±10.5	89.5±4.2	89.9±5.5	93.2±2.8	0.258
BUN (mg/dl)	13.1±1.7 ^b	33.6±3.1 ^a	19.1±6.5	21.7±5.2	<0.001
Üre (mg/dl)	28.3±3.2 ^b	53.0±7.2 ^a	37.2±13.3	36.9±14.2	<0.001
Kreatinin (mg/dl)	0.33±0.1 ^b	0.85±0.3 ^a	0.47±0.1	0.51±0.1	<0.001

^a grup 2 – grup1,3,4 p<0.05, ^b grup—grup3,4 p<0.05

Eritrosit GSHpx değerleri İ/R gurubunda diğer guruplara göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede düşük (p<0.05), düşük ve yüksek doz resveratrol gurupları arasında farklılık yok, kontrol gurubundan anlamlı derecede düşük, İ/R gurubundan anlamlı derecede yüksekti (p=0.003) (Tablo III).

Eritrosit SOD değerleri İ/R gurubunda diğer guruplara göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede düşük (p<0.001), diğer guruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı saptandı (p<0.001) (Tablo III).

Tablo III :Eritrositlerde ölçülen biyokimyasal parametrelerin sonuçları.

	Gurub 1	Gurub 2	Gurub3	Gurub 4	P değeri
GSHpx (U/g Hem)	1.11±0.5 ^b	0.48±0.3 ^a	0.63±0.3	0.62±0.3	0.003
SOD (U/g Hem)	12.94±1.6	8.40±1.6 ^a	12.21±1.5	11.63±0.7	<0.001

^a grup 2 – grup1,3,4, ^b grup—grup3,4 p<0.05

Böbrek dokusunda ölçülen MDA değerlerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktu ($p=0.084$).

TNF- α değerleri İ/R gurubunda diğer guruplara göre anlamlı derecede yüksek ($p<0.001$), diğer guruplar arasında anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$).

GSHpx değerleri İ/R gurubunda diğer guruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük ($p<0.001$), diğer guruplar arasında anlamlı farklılık yoktu ($p=0.009$).

SOD değerleri İ/R gurubunda diğer guruplara göre anlamlı derecede düşük ($p<0.001$), diğer guruplar arasında anlamlı farklılık yoktu ($p=0.001$). (Tablo IV)

Tablo IV : Böbrek dokusunda ölçülen biyokimyasal parametrelerin sonuçları.

	Gurub 1	Gurub 2	Gurub3	Gurub 4	P değeri
MDA (mmol/g protein)	0.40±0.1	0.68±0.1	0.53±0.2	0.66±0.3	0.084
TNF- α (ng/g protein)	113.2±20.4	163.9±17.2 ^a	121.6±30.7	124.4±40.8	<0.001
GSHpx (U/g protein)	53.1±35.9	21.1±9.1 ^a	35.4±11.1	33.3±6.5	0.009
SOD (U/mg protein)	131.2±12.8	66.0±48.7 ^a	97.5±21.2	92.4±17.7	0.001

^a grup 2 – grup1,3,4 $p<0.05$

4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Sivarajah ve arkadaşlarının (176) kullandıkları skorlama sistemi kullanılarak böbrek dokusu histopatolojik değerlendirmesi gerçekleştirildi. Kesitlerin mikroskopik incelemesinde görülen değişiklikler her bir kesitte 0 dan 3 e kadar skorlandı; normal histoloji: 0, kesitte görülen proksimal tübül hücrelerinin 1/3'ünden azında, tübül epitel hücrelerinde şişme, epitel hücrelerinde çizgili kenar kaybı, nükleer piknoz, sitoplazmik eozinofili, nükleus kaybı, hücrelerde dökülmenin görülmesi:1, değişikliklerin tübüllerin 1/3'ünden fazla 2/3'ünden azında görülmesi:2, değişikliklerin tübüllerin 2/3'ünden fazlasında görülmesi:3 puan şeklinde skorlandı.

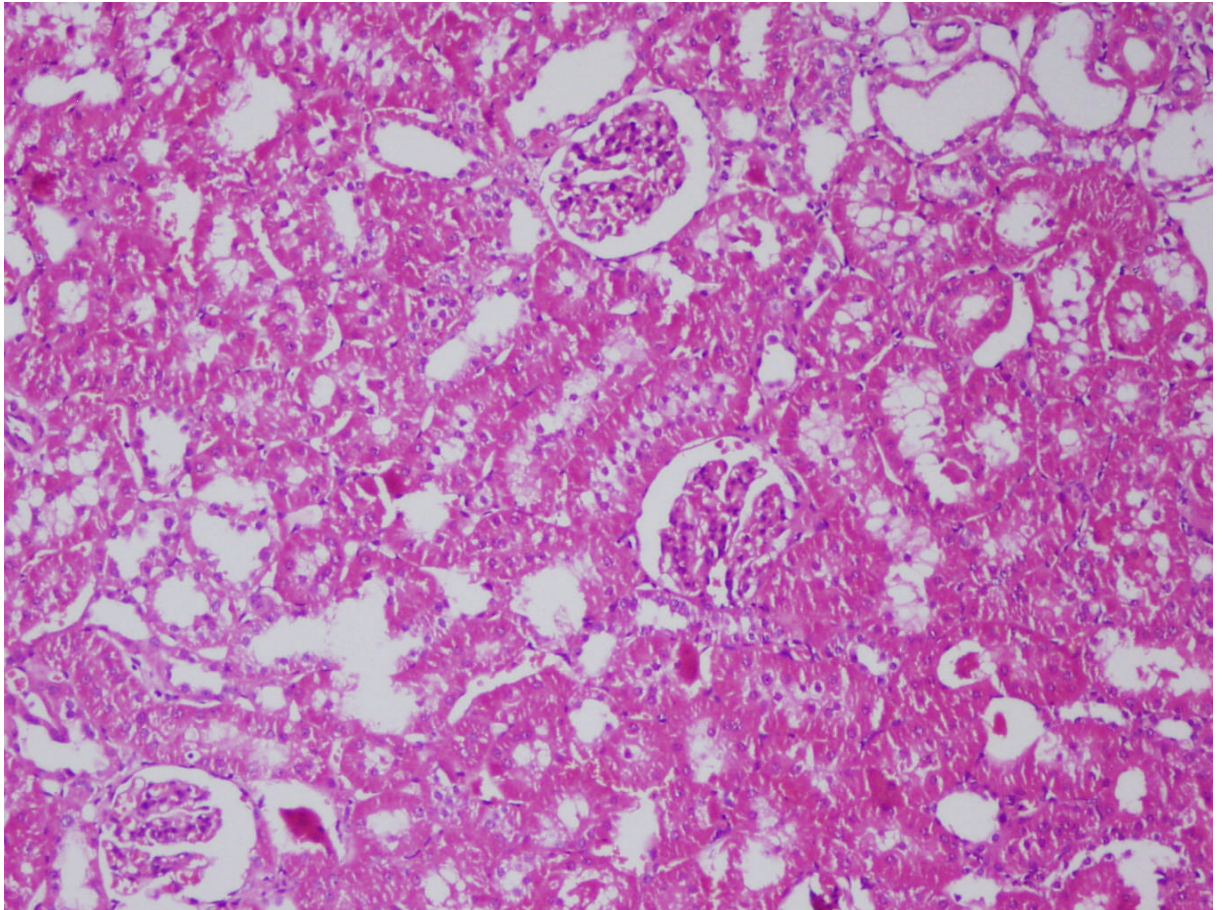
Tablo V: Histopatolojik değerlendirme.

	T. hücrelerde şime	p.t. çizgili kenar kaybı	Nükleer piknozis	Sitoplazmik eoznofili	Nükleus kaybı	Hücrelerde dökülme
Gurup 1-1	0	1	0	0	0	0
Gurup 1-2	0	0	0	0	0	0
Gurup 1-3	0	1	0	0	0	0
Gurup 1-4	0	0	0	0	0	0
Gurup 1-5	0	0	0	0	0	0
Gurup 1-6	0	1	0	0	0	0
Gurup 1-7	0	0	0	0	0	0
Gurup 1-8	0	0	0	0	0	0
Gurup 2-1	0	0	0	0	0	0
Gurup 2-2	0	1	0	0	0	0
Gurup 2-3	0	1	0	0	0	1
Gurup 2-4	0	0	0	0	0	1
Gurup 2-5	0	0	0	0	0	0
Gurup 2-6	0	0	0	0	0	0
Gurup 2-7	0	0	0	0	0	0
Gurup 2-8	0	1	0	0	0	1
Gurup 3-1	0	1	0	0	0	0
Gurup 3-2	0	0	0	0	0	0
Gurup 3-3	0	1	0	0	0	1
Gurup 3-4	0	1	0	0	0	0
Gurup 3-5	0	0	0	0	0	0
Gurup 3-6	0	1	0	0	0	0
Gurup 3-7	0	0	0	0	0	0
Gurup 3-8	0	0	0	0	0	0
Gurup 4-1	0	0	0	0	0	0
Gurup 4-2	0	0	0	0	0	0
Gurup 4-3	0	0	0	0	0	0
Gurup 4-4	0	0	0	0	0	0
Gurup 4-5	1	0	0	0	0	1
Gurup 4-6	0	0	0	0	0	0
Gurup 4-7	1	0	0	0	0	1
Gurup 4-8	0	0	0	0	0	0

Histopatolojik değerlendirmede tüm guruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık yoktu ($p=0.917$). (Tablo VI) Böbrek dokusunda histopatolojik değişiklik gözlenmedi (Resim VI).

Tablo VI: Histopatolojik sonuçlar.

	Gurub 1		Gurub 2		Gurub3		Gurub 4		P değeri
	Sayı	yüzde	sayı	yüzde	sayı	yüzde	sayı	yüzde	
Histopatolojik değişiklik yok	5	62.5	4	50.0	4	50.0	5	62.5	0.917
Histopatolojik değişiklik var	3	37.5	4	50.0	4	50.0	3	37.5	



Resim VI: Böbrek dokusu

V. TARTIŞMA

Aort cerrahisine bağlı multipl organ iskemi ve reperfüzyon hasarı gelişen teknolojiye rağmen halen vasküler cerrahide günümüzde ciddi bir komplikasyon olarak devam etmektedir. İskemi döneminde oluşan hasarlanmanın yanında dolaşımın yeniden sağlanması yani reperfüzyon fazında da dokularda hasar meydana gelmektedir. Reperfüzyon hasarının tam mekanizması bilinmemekle beraber reaktif SOR, endotelial faktörlerin, PMNL'lerin, hücre içi Ca^{+2} dengesi bozukluklarının, mikrovasküler disfonksiyonun, inflamatuvar reaksiyonların ve apoptozisin reperfüzyon hasarının altında yatan potansiyel mekanizmalar olduğu düşünülmektedir. AKK bağlı İ/R hasarının lokal ve sistemik etkileri bulunmaktadır. Lokal etkiler klempt distalinde damarlarda ve kas dokusunda görülürken, sistemik etkiler de başlıca beyin, kalp, akciğer, böbrekler olmak üzere hemen tüm organlarda görülür. Multi Organ Disfonksiyon Sendromu bu etkileriyle aortik cerrahi sonrası yoğun bakım ünitelerinde ki 3. en sık mortalite (% 30-40) sebebi olarak karşımıza çıkar (98,99).

Aort cerrahisi sonrası gelişen İ/R hasarında böbrekler hedef organlardan biri konumundadır. Böbrekler aerobik metabolizmanın belirgin olduğu önemli bir organdır. Böbrekler vücut ağırlığının % 1'ini oluşturmasına rağmen, sıvı elektrolit dengesini korumak için vücut oksijen tüketiminin %10'unu kullanırlar. Kardiyak outputun %20'sini alan böbrekler PMNL ve monositlerin glomerüllere ve interstisyel dokuya infiltrasyonu sonucunda daha çok oksidan strese maruz kalırlar. AKK yerine göre böbrekler değişen oranlarda hasarlanmaya maruz kalabilirler. İnfrarenal aorta cerrahisinde hemodiyaliz gerektiren renal yetmezlik insidansı % 5 iken (134), suprarenal aort cerrahisinde % 17 (135), torasik aortaya kros-klemp yerleştiren hastalarda ise renal komplikasyon oranı % 51'lere kadar yükselmektedir. Renal yetmezlik hemen her zaman akut tübüler nekrozun sonucudur (136). Renal arterlerin deneysel klemplenme modellerinde, renal kan akımı tıkanıklığın giderilmesi sonrasında kısa sürede geri dönerken, torasik aortada klemptin kaldırılması sonrasında uzamış renal akım ve glomerüler filtrasyon düşüklüğü görülmektedir (139).

AKK bağlı renal İ/R hasarını değerlendirmede deneysel çalışmalar genellikle rat ve tavşan modelleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Deneysel çalışmalarda genellikle böbrek İ/R hasarı selektif renal arter klempenmesi ile gerçekleştirilmiştir (177, 178, 179). Çok az çalışmada da infrarenal abdominal aortaya klemp konulması şeklinde gerçekleştirilmiştir (35,87,172). Biz alışmamızda deney hayvanı olarak uygun olan en kuk hayvan kullanma prensibi ile rat kullandık, direkt aort cerrahisinin İ/R hasarını değerlendirme amacı ile abdominal aortaya sol renal venin distalinden klemp koyarak infrarenal AKK'e bağlı renal İ/R hasarını değerlendirmeyi amaçladık.

Aort cerrahisinde İ/R hasarını onlemek için reperfüzyonu ilk anoksik ardından normooksik kanla yapılması (80,81), AKK açılmadan önce SOD verilmesi, tromboksan reseptör antagonistleri, ACE inhibitörleri, nifedipin gibi kalsiyum kanal blokörleri, mannitol, dopamin, diüretikler, antioksidan özellikleri olduğu bilinen çeşitli farmakolojik ajanlar kullanılmış ve belirli lde yararlı etkileri gösterilmiştir (78, 83, 129, 131, 141, 145).

İn vivo güçlü antioksidan özelliği bilinen resveratrol'un İ/R hasarında koruyucu etkinliğini araştıran çeşitli sayıda yayınlar mevcuttur (180, 181, 182). Resveratrol'un bu özelliklerinden dolayı biz çalışmamız da infrarenal aort İ/R bağlı oluşan böbrek hasarında resveratrol'un etkisini araştırmayı amaçladık.

İ/R hasarına bağlı renal komplikasyonları azaltma amacıyla uygulanan antioksidan ajanların etkisini araştırmak için yapılmış olan deneysel çalışmalarda çeşitli biyokimyasal parametreler (SOD, GSHpx, XO aktivitelerinin llmesi, MDA, BUN, re, kreatinin, cystatin-C, Beta 2 mikroglobulin interlökin seviyelerinin tayinleri gibi) ve histopatolojik değerlendirme gibi parametreler kullanılmıştır. Bizde alışmamızda biyokimyasal parametre olarak plazma cystatin-C, MDA, BUN, re, kreatinin, TNF- α , böbrek dokusu MDA, TNF- α seviyelerini, eritrosit ve böbrek dokusu SOD ve GSHpx aktivitelerini ölçtük. Histopatolojik değerlendirmede ise böbrek dokusunun hemotoksilen-Eozin boyası ile boyanıp ışık mikroskobunda incelenmesi metodunu kullandık.

İskemi sonrası reperfüzyon periyodunda oluşan SOR renal hasar oluşmasında önemli rol oynamaktadır. SOR'lerine bağlı reperfüzyon hasarının göstergesi olan lipid peroksidasyonu parametresi MDA seviyesidir. MDA poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyon ve araşidonik asit metabolizma ürünüdür (34). Lu ve arkadaşları iskemi ardından 1., 2., 4., 8., 12., saatlerde oluşturdukları reperfüzyon deneyinde MDA seviyelerinin tüm reperfüzyon saatlerinde yüksek olduğunu rapore etmişlerdir (183). Biz çalışmamızda oluşturduğumuz İ/R modelinde reperfüzyon süresini 120 dakika kullandık. İ/R gurubunda literatürle paralel olarak MDA seviyesini yüksek bulduk ($p<0.001$), düşük ve yüksek doz resveratrol guruplarında MDA seviyeleri kontrol gurubu ile anlamlı farklılık yoktu. Doku İ/R hasarının önemli bir göstergesi olan MDA seviyesinin antioksidan kullanılan guruplarda istatistiksel olarak anlamlı düşüşü resveratrol'ün antioksidan etkinliği açısından olumlu olarak yorumlandı.

SOD, bir metalloenzimdir. Oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunur (61). SOR ile oluşan hasara karşı SOD, katalaz ve glutatyon enzim sistemiyle birlikte çalışan bir savunma mekanizmasıdır. Baker ve ark. renal arter klemplenmesiyle oluşturup SOD enziminin etkinliğini araştırdıkları çalışmada İ/R periyodunda SOD seviyelerinin böbrek dokusunda anlamlı derecede arttığını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada iskemi-reperfüzyon uygulanan guruba reperfüzyondan önce SOD enzimi ile antioksidant terapi yapılmış ve İ/R hasarının anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır (184). Hoch ve ark.'nın yaptıkları çalışmada ise İ/R uygulanan köpek alt ekstremitelerinde mannitol ve SOD enziminin nöromusküler koruyucu etkinliği olduğunu saptamışlardır (185). Bhalodia ve arkadaşları renal arter okluzyonu ile gerçekleştirdikleri İ/R deneysel çalışmasında İ/R gurubunda MDA, BUN ve kreatinin seviyesinin yükseldiğini, SOD, katalaz ve GSHpx enzim aktivitelerinin azaldığını belirttiler (186). Yuan ve arkadaşları, Gedik ve arkadaşları hepaik İ/R hasarını araştırdıkları deneysel çalışmalarda İ/R gurubunda MDA düzeylerinin yükseldiğini, SOD, katalaz ve GSHpx enzim aktivitelerinin azaldığını gösterdiler (187, 188). Diğer bir değerlendirme enzimi olan eritrositlerde ve diğer dokularda, prostetik grup olarak selenyum içeren GSHpx enzimi, indirgenmiş glutatyon tarafından H_2O_2 ve lipid peroksitlerinin parçalanmasını katalize eder; böylece membran lipidlerini ve

hemoglobini, peroksidlerin oksidasyonuna karşı korur. Gedik ve arkadaşlarının hepaik İ/R hasarına resveratrol'ün etkisini araştırdıkları deneysel çalışmada İ/R gurubunda MDA düzeylerinin yükseldiğini, SOD, katalaz ve GSHpx enzim aktivitelerinin azaldığını gösterdiler. Resveratrol verilen gurupda değerlerin kontrol gurubuyla benzer olduğunu belirterek resveratrol'ün hepatik İ/R hasarında yararlı olduğunu göstermişlerdir (188). Bizim çalışmamızda plazma ve böbrek dokusunda İ/R gurubunda kontrol gurubuna göre SOD ve GSHpx aktiviteleri düşük bulundu, diğer guruplar arasında fark yoktu. Bu bulgular AKK bağlı oluşan renal İ/R hasarında da resveratrol'ün koruyucu etkinliğinin olduğunu düşündürmektedir.

Takehiko ve arkadaşları, Nishiyama ve arkadaşları, Saito ve arkadaşları sol renal arteri 60 dakika klempleyerek oluşturdıkları İ/R deneysel çalışmalarında İ/R hasarının böbrekte hasarlanma yaptığını tahmin etmede kolay ve basit bir yöntem olan biyokimyasal parametre olarak kullandıkları BUN ve kreatinin seviyelerinin İ/R gurubunda yükseldiğini rapore etmişlerdir (177, 178, 179). Bu literatürler eşliğinde bizim çalışmamızda da BUN, üre ve kreatinin serum konsantrasyonlarını renal fonksiyonlardaki değişimleri gözlemlemek amacıyla kullandık. Çalışmamızda İ/R gurubunda diğer guruplara göre BUN, üre ve kreatinin değerleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$), değerler düşük ve yüksek doz resveratrol guruplarında İ/R gurubundan düşük fakat kontrol gurubundan istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksekti. Serum BUN, üre ve kreatinin birçok renal olmayan değişkenlerden etkilenmektedir. Malnutrisyon, şiddetli açlık veya anabolik durum, hamilelik, antidiüretik hormon artışı, hipotroidizm ve karaciğer hastalığı kan üre konsantrasyonunu düşürürken buna karşın yüksek proteinli diyet, dehidratasyon, gastrointestinal kanama, malignite, katabolik durum ve ilaçlar (Kortikosteroidler, tetrasiklinler) kanda üre konsantrasyonu artırır. Karaciğer hastalıkları hem üre hem de kreatinin üretimini azaltır. Serum kreatinini; kas kitlesinden, diyetteki protein alımından, yaştan, cinsiyetten, vücut ağırlığından ve ırksal orijinden etkilenir. Yüksek protein diyeti, geniş kas kitlesi, rabdomyoliz ve ilaçlar (Trimetoprim, simetidin, spironolakton, probenecid, triamteren) kreatinin düzeyini artırırken, küçük kas hacmi, hamilelik ve antidiüretik hormonun artışı kan kreatinin seviyelerini düşürür. İlaçlar

kreatininin renal tübüllerden sekresyonu esnasında etkileşerek bunu bloke eder. İlaçlar GFH'ına etki etmeksizin kreatinini yükseltirler. Bu yüzden birçok değişken serum kreatinin ölçümünü etkileyerek GFH'na ait tahmini vermede zorluk çıkartmaktadır. Bunun yanında serum üre ve kreatinin'in atması, böbrek fonksiyon bozukluğu için geç bir işarettir, kreatinin değerlerinde anlamlı yükselme olması için glomerül filtrasyon hızında % 50-70 azalma olmalıdır (189). Bu ve benzeri kısıtlamalarından dolayı çalışmamıza glomerül filtrasyon hızındaki değişikliği daha erken ve spesifik olarak gösteren cystatin-C ölçümünü de dahil ettik.

Cystatin-C tüm çekirdekli hücrelerde sabit hızla sentezlenen 122 aminoasitli, 13 kDa ağırlığında nonglikolize polipeptidli bir sistein proteinaz inhibitörüdür. Glomerüllerden serbestçe süzülür ve tamamına yakını proksimal tübülden reabsorbe edilerek katabolize edilir. Newman ve arkadaşları cystatin-C'nin yaş ve cinsiyete bağlı değişiklik göstermemesi, belirgin diurnal ritmi olmaması, sabit üretim hızı, vücut kas kitlesinden etkilenmemesi, glomerüllerden serbestçe süzülmesi nedeniyle glomerül filtrasyon hızının erken ve spesifik göstergesi olduğunu gösterdiler (190). Cystatin C sabit üretim hızı, glomerüllerden tama yakın filtre olması, tübüllerde metabolize edilmesi ve böbrek dışı faktörlerden düzeylerinin çok etkilenmemesi altın standart kabul edilen eksojen markerlar ile yapılan GFR ölçümleriyle iyi korelasyon göstermiştir (190, 191). Serum cystatin-C düzeylerinin akut böbrek yetmezliği gibi hızlı GFH azalmalarında yapılan çalışmalarda kreatinine göre daha erken bulgu verdiği ve daha kullanışlı olduğu bildirilmiştir (192, 193). Bizim çalışmamızda İ/R gurubunda plazma cystatin-C seviyesi kontrol gurubuna göre anlamlı seviyede yüksek ($p < 0.001$), düşük ve yüksek doz resveratrol guruplarında kontrol gurubuna göre rakamsal olarak yüksek fakat istatistiksel açıdan anlamlı farklılık yoktu ($p > 0.05$).

TNF- α , 20-50 kDa ağırlığında polipeptid yapıda bir hormon olup tümör hücrelerinde hemorajik nekroz yaptığı için kendisine bu ad verilmiştir. TNF- α 'nın kaşektik etkisi, lipoprotein lipaz aktivitesini arttırmasına bağlı olarak yağ hücrelerinin azalması ile ilişkilidir. TNF- α , damar endotelinin prokoagulan ve antikoagulan fonksiyonlarında değişiklikler yaparak pıhtılaşma sistemini aktive

eder (194). Sadis ve arkadaşları renal İ/R hasarını araştırdıkları çalışmalarında İ/R gurubunda böbrek dokusunda TNF- α düzeyinin yükseldiğini belirttiler (195). Bizde alışmamızda böbrek dokusunda İ/R gurubunda diğer guruplara göre TNF- α değerlerini yüksek bulduk, ancak plazma TNF- α değerlerinde guruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu.

Birçok çalışmada histopatolojik olarak İ/R guruplarında tübüllerde belirgin histopatolojik değişiklikler rapore edilmiştir (177, 178, 179, 186). Çalışmamızda Sivarajah ve arkadaşlarının (176), kullandıkları metodu kullanarak tübül epitel hücrelerinde şişme, epitel hücrelerinde çizgili kenar kaybı, nükleer piknoz, sitoplazmik eozinofili, nükleus kaybı, hücrelerde dökülmenin görülmesi kriterlerini kullandık. Literatürün aksine histopatolojik olarak guruplar arasında farklılık belirlemedik. Literatürde direkt renal artere klemp konularak iskemi oluşturulmuştu ve 24 saatlik reperfüzyon süresi kullanılmıştı, biz çalışmamızda infrarenal abdominal aortaya kros klemp koyduk ve alt ekstremitelere iskemi oluşturarak 2 saat reperfüzyon uyguladık. Bu srenin renal İ/R hasarının histopatolojik olarak ortaya çıkması için kısa olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

VI. SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışmada infrarenal aortik seviyeden uygulanan kros klemp ile gövdenin alt yarısında yani “ Lower torso” İ/R çalışılmış, uzak organ konumundaki böbreklerde oluşan hasar ağırlıklı biyokimyasal markerler üzerinden araştırılmıştır. AKK’e bağlı olan renal iskemi ve reperfüzyon hasarını azaltmada resveratrol’ün etkinliğini araştırmayı planladığımız bu deneysel çalışmada özellikle biyokimyasal parametrelerde oldukça olumlu etkilerinin olduğunu gözlemledik. İnfrarenal AKK sonrası İ/R’na bağlı oluşan uzak organ hasarına resveratrol’ün etkilerinin daha geniş çalışmalarla araştırılması kanaatindeyiz.

VII. ÖZET

Aort cerrahisinde iskemi reperfüzyona bağlı gelişen multipl organ hasarı günümüzde halen önemli bir sorun olarak devam etmektedir. İskemik süreç lokal olarak kas ve damarlarda hasara neden olmakta, dolaşımın yeniden sağlanması sonrası ortaya çıkan reperfüzyon evresi ise lokal ve sistemik hasara neden olmaktadır. Sistemik etkiler başlıca kalp, akciğer, beyin, GİS ve böbrekte görülmektedir. Aort cerrahisi sonrası oluşan böbrek hasarı ciddi bir mortalite ve morbidite oluşturmaktadır. Resveratrol, antioksidan, anti-enflamatuvar, anti-apoptotik etkileri olduğu bilinen polifenolik bir bileşiktir. Bu çalışmada, rat infrarenal abdominal aortasında oklüzyon ve reperfüzyon sonrası, böbreklerde oluşan İ/R hasarına resveratrol'ün etkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışmada Winstar albino rat kullanıldı, denekler 4 gruba ayrıldı, her grupta 8 adet denek vardı. Gruplar; Grup 1: sham grubu, grup 2: İ/R grubu; infrarenal abdominal aortaya klempaj uygulanarak gerçekleştirilen iskemi ve reperfüzyon grubu, grup 3: Düşük doz resveratrol (40 mg/gün) + İ/R grubu, grup 4: Yüksek doz resveratrol (60 mg/gün) + İ/R grubu olarak planlandı. Biyokimyasal parametreler olarak kan da Cystatin-C, BUN, üre, kreatinin, MDA, TNF- α , SOD, GSHpx, böbrek dokusunda MDA, TNF- α , SOD, GSHpx ölçüldü. Böbrek histopatolojik olarak incelendi. Değerlendirmeler sonunda plazma Cystatin-C, BUN, üre, kreatinin, MDA değerleri kontrol grubuna göre İ/R grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek, resveratrol gruplarında İ/R grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü. Kan TNF- α değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok, böbrek dokusunda ise İ/R grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde artmıştı. SOD, GSHpx aktiviteleri kan ve doku örneklerinde İ/R grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşmüş, resveratrol gruplarında İ/R grubuna göre artmış bulundu. Histopatolojik olarak yapılan incelemelerde istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe rastlanmadı.

Sonuç olarak infrarenal aortik seviyeden uygulanan klempaj sonrası alt ekstremitelelerin iskemi reperfüzyonuna bağlı gelişen uzak organ olan böbrek

hasarına resveratrol'ün etkinliğini araştırmayı planladığımız deneysel çalışmamızda özellikle biyokimyasal parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde olumlu etkilerinin olduğunu gözlemledik.

VIII. SUMMARY

Multiple organ damage due to ischemic reperfusion in aortic surgery has still been an important problem. Ischemic process locally causes damages on muscles and vessel, on the other hand reperfusion phase occurring after maintaining the circulation again causes local and systemic damages. The systemic effects are seen primarily at heart, lungs, brain, GIS, and kidneys. The renal damage seen after aortic surgery generates serious mortality and morbidity. Resveratrol, is a polyphenolic compound having known antioxidant, antiinflammatory, antiapoptotic properties. In this study, we aimed to study the effects of resveratrol on I/R damage on kidneys occurred after occlusion and reperfusion of infrarenal abdominal aorta of rats.

In this study Wistar albino rats were used, the subjects were divided into 4 groups and in each group there were 8 subjects. The groups were planned as; group 1: sham group, group 2: Control group; ischemia and reperfusion occurring as a result of clamping infrarenal abdominal aorta, group 3: Low dose resveratrol (40 mg/day) + I/R group, group 4: High dose resveratrol (60 mg/day) + I/R group. Biochemical parameters such as Cystatin-C, BUN, urea, creatinin, MDA, TNF- α , SOD, GSHpx, MDA in kidney tissue, TNF- α , SOD, GSHpx were measured in blood. Kidney was examined histopathologically. As a result plazma Cystatin-C, BUN, urea, creatinin, MDA values of I/R group were statistically significantly higher than control group, and values of resveratrol were statistically significantly lower than I/R groups. There was no statistically significant difference at blood TNF- α values between groups, on the other hand in renal tissue these values were significantly increased in I/R group. SOD, GSHpx activities on blood and tissue samples of I/R group were statistically significantly decreased compared to control group, they were increased in resveratrol groups compared to I/R groups. No significant differences were observed between groups in histopathological examinations.

In conclusion; in our experimental study that we had planned to examine the beneficial effects of resveratrol on renal ischemia and reperfusion injury caused by aortic clamping; we observed statistically significant favourable results especially on biochemical parameters. But we think that larger experimental studies forming injury due to aortic clamping at histopathological level, will provide much more benefits in the assesment of the effects of resveratrol on renal I/R injury.

IX. KAYNAKLAR

- 1- Parks DA, Granner DN: Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion Formation. *Am J Physiol* 1986;250:749-753.
- 2- Colletti LM, Kunkel SL, Walz A, Burdick MD, Kunkel RG, Wilke CA, Strieter RM. Chemokine expression during hepatic ischemia/reperfusion-induced lung injury in the rat. The role of epithelial neutrophil activating protein. *J Clin Invest.* 1995;95:134-141.
- 3- Andersen CB, Blæhr H, Ladefoged S, Larsen S. Expression of the intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in human renal allografts and cultured human tubular cells. *Nephrol Dial Transplant.* 1992;7:147-154.
- 4- Li Y, Cao Z, Zhu H. Upregulation of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes by the red wine polyphenol, resveratrol in cultured aortic smooth muscle cells leads to cytoprotection against oxidative and electrophilic stress. *Pharmacol Res.* 2006;53:6–15.
- 5- Oya Sayın, Nur Arslan, Gül Güner Resveratrol and Cardiovascular System Turkish Journal of Biochemistry–*Turk J Biochem* 2008;33;117–121.
- 6- Donna L. Carden, D. Neil Granger. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000;190:255-266.
7. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA Ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res.* 2002;105:248-258.
- 8- Krause GS., white BC, Aust SD, et al. Brain cell death following ischemia and reperfusion: a proposed biochemical sequence. *Crit. Care Med* 1988;16:714-726.
- 9- Siesjö BK. Mechanisms of ischemic brain damage. *Crit. Care Med* 1988;16:954-963.
- 10- Lehninger AL. Generation of ATP in an anaerobic cell. In: *Bioenergetics*. ed 2 Menlo Park, Calif: WA Benjamin 1971:53-71.
- 11- Cook HW, Lands WE. Mechanism for suppression of cellular biosynthesis of prostaglandins. *Nature* 1976; 15:630-632
- 12- Kubler W, Katz AM. Mechanism of early "pump" failure of the ischemic heart: possible role of adenosine triphosphate depletion and inorganic phosphate accumulation. *Am J Cardiol.* 1977;40:467–471
- 13- Siesjö BK. Cell damage in the brain: a speculative synthesis. *Acta Psychiatr Scand Supplement* 1984;313:57–59
- 14- Hamberg M, Svensson J, Samuelsson Thromboxanes: a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1975; 72 :2994–2998
- 15- Newmeyer DD, Ferguson-Miller S. Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death. *Cell.* 2003;112:481–490.
- 16- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th edition. Philadelphia, Saunders, 2004.

- 17- Charles D.Collard, Simon Gelman. Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Prevention of ischemia-Reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133-1138.
- 18-Guan W, Osanai T, Kamada T, Hanada H, Ishizaka H, Onodera H, et al. Effect of allopurinol pretreatment on free radical generation after primary coronary angioplasty for acute myocardial infarction. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003;41:699-705.
- 19-Tsujita K, Shimomura H, Kaikita K, et al. Long-term efficacy of edaravone in patients with acute myocardial infarction. *Circ J* 2006;70:832-837.
- 20- Zweier JL, Talukder MA. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2006;70:181-190
- 21- Semenza GL. Cellular and molecular dissection of reperfusion injury: ROS within and without. *Circ Res.* 2000;86:117-118
- 22-Beckman JS., Chen J., Ischiropoulos H., Crow JP. Oxidative chemistry of peroxynitrite. *Meth Enzymol* 1994;233:229-240
- 23-Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 2004;266:37–56
- 24-Poli G, Leonarduzzi G, Biasi F, Chiarotto E. Oxidative stress and cell signalling. *Curr Med Chem* 2004;11:1163–1182.
- 25-Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd ed, Oxford University Press, 1999.
- 26-Carden D.L., Granger D.N. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000;255-266.
- 27-Desideri A, Falconi M. Prokaryotic Cu, Zn superoxidies dismutases. *Biochem Soc Trans* 2003; 31:1322–1325.
- 28-Stohs SJ, Bagchi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal-ions. *Free Rad Biol Med* 1995;18:321–336.
- 29- Leonard SS, Harris GK, Shi XL. Metal-induced oxidative stress and signal transduction, *Free Rad Biol Med* 2004;37:1921–1942
- 30- Liochev SI, Fridovich I. The Haber-Weiss cycle 70 years later: an alternative view, *Redox report* 2002;7:55–57.
- 31-Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4- hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Rad Biol Med* 1991;11:81–128.
- 32- Pinchuk I, Schnitzer E, Lichtenberg D. Kinetic analysis of copperinduced peroxidation of LDL, *Biochim Biophys Acta- Lipids Lipid Metab* 1998;1389:155–172.
- 33- Nyska A, Kohen R. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification., *Toxicol Pathol* 2002;30:620–650.
- 34-Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1990;186:421-431.

- 35- Karabiga M. Aprotin'inin deneysel aortik iskemi reperfüzyon modelinde böbrek hasarı üzerine etkisi. T.C. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı. Tıpta uzmanlık tezi. Isparta. 2006
- 36- Kumar V., Cotran R., Robbins S.L. Basic Pathology. 6th edition.2000: P:6-10, 30-36.
- 37- Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. J Lipid Res 2000;39:1529-1542.
- 38- Ertan T, Soran A, Kılıç M, Aşlar AK, Koç M, Cengiz Ö. Kan Malondialdehid ve total antioksidan seviyesinin önemi. Cerrahi Tıp Bülteni 2000;4:154-167.
- 39- Huang HY, Helzlsouer KJ, Appel LJ. The effects of vitamin C and vitamin E on oxidative DNA damage: Results from a randomized controlled trial. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention 2000;9:647-652.
- 40- Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. Carcinogenesis 2000;3:361-370
- 41- Lemasters JJ, Bond JM, Chacon E, Harper IS, Kaplan SH, Ohata H, et al. The pH paradox in ischemia-reperfusion injury to cardiac myocytes. EXS 1996;76:99-114.
- 42- Piper HM, Garcia-Dorado D, Ovize M. A fresh look at reperfusion injury. Cardiovasc Res 1998;38:291-300.
- 43- Menown B, Adgey AA. Cardioprotective therapy and sodium-hydrogen exchange inhibition: current concepts and future goals, J Am Coll Cardiol 2001;38:1651-1653.
- 44- Li C, Jackson RM. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. Am J Physiol Cell Physiol. 2002;282:227-241.
- 45- Mc Cord J, Franklin H: Oxigen derived free radicals in postischemic tissue injury. New Eng JMed 1985;312:159-163
- 46- Ichimiya M, Chang SH, Liu H, Berezsky IK, Trump BF, Amstad PA Effect of Bcl-2 on oxidant-induced cell death and intracellular Ca²⁺ mobilization. Am J Physiol. 1998;275: 832-839.
- 47- Orrenius S, Ankarcrona M, Nicotera P. Mechanisms of calcium-related cell death: AdvNeurol. 1996;71:137-149.
- 48- Salvemini D, Cuzzocrea S. Superoxide, superoxide dismutase and ischemic injury. Curr Opin Investig Drugs.;1998;46:886-895.
- 49- Kaminski KA, Bonda TA, Korecki J, Musial WJ. Oxidative stress and neutrophil activation- the two keystones of ischemia/reperfusion injury. Int J Cardiol. 2002;86:41-59.
- 50- Grisham MB, Hernandez LA, Granger DN. Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischemia. Am J Physiol. 1986;251:567-574.
- 51- Thiagarajan RR, Winn RK, Harlan JM. The role of leukocyte and endothelial adhesion molecules in ischemia-reperfusion injury. Thromb Haemost. 1997;78:310-314.
- 52- Weinbroum AA, Hochhauser E, Rudick V, et al. Multiple organ dysfunction after remote circulatory arrest: Common pathway of radical oxygen species. J Trauma 1999;47:691-698
- 53- Archer S. Measurement of nitric-oxide in biological models, FASEB J 1993;7:349-360
- 54- Chiueh CC, Neuroprotective properties of nitric oxide, Ann NY Acad Sci 1999;89:301-311.

- 55- Ono H, Osanai T, Ishizaka H, Hanada H, Kamada T, Onodera H, et al. Nicorandil improves cardiac function and clinical outcome in patients with acute myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: role of inhibitory effect on reactive oxygen species formation. *Am Heart J* 2004;148:15.
- 56- Duebener LF, Sakamoto T, Hatsuoka S, Stamm C, Zurakowski D, Vollmar B, et al. Effects of hematocrit on cerebral microcirculation and tissue oxygenation during deep hypothermic bypass. *Circulation* 2001;104:260-264.
- 57- Beckman JS. Rebounding from nitric oxide. *Circ Res* 2001;89:295-297.
- 58- Carr AC, McCall MR, Frei B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species—reaction pathways and antioxidant protection. *Arterioscl. Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1716–1723.
- 59- Ishii H, Ichimiya S, Kanashiro M, Amano T, Imai K, Murohara T, et al. Impact of a single intravenous administration of nicorandil before reperfusion in patients with ST-segment-elevation myocardial infarction. *Circulation* 2005;1:12-28.
- 60- Weyrich AS, Ma XL, Lefler AM. The role of L-arginine in ameliorating reperfusion injury after myocardial ischemia in the cat. *Circulation* 1992;86:279-288.
- 61- McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem.* 1969;244:6049-6055.
- 62- Spitz DR, Oberley LW. An assay for superoxide dismutase activity in mammalian tissue homogenates. *Anal Biochem.* 1989;179:8-18.
- 63- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967;70:158-169.
- 64- Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984;105:121-126.
- 65- Shenaq SA, Hentz JG, Cohen E. [Anesthesia for the surgery of the thoracic and thoracoabdominal aorta] *Ann Fr Anesth Reanim.* 1987;6:150-155.
- 66- Falk JL, Rackow EC, Blumenberg R, Gelfand M, Fein IA. Hemodynamic and metabolic effects of abdominal aortic crossclamping. *Am J Surg.* 1981;142:174-177.
- 67- Roizen MF, Hunt TK, Beaupre PN, Kremer P, Firmin R, Chang CN, Alpert RA, Thomas CJ, Tyrrell JB, Cahalan MK. The effect of alpha-adrenergic blockade on cardiac performance and tissue oxygen delivery during excision of pheochromocytoma. *Surgery.* 1983;94:941-945.
- 68- Gelman S. The pathophysiology of aortic cross-clamping and unclamping. *Anesthesiology.* 1995;82:1026-1060.
- 69- Whalley DG, Salevsky FC, Ryckman JV. Haemodynamic and metabolic consequences of aortic occlusion during abdominal aortic surgery. *Br J Anaesth.* 1993;70:96-98.
- 70- Walker PM, Johnston KW. When does limb blood flow increase after aortoiliac bypass grafting? *Arch Surg.* 1980 ;115:912-915.
- 71- Grant RP, Jenkins LC. Modification by preoperative beta-blockade of the renin response to infrarenal aortic cross-clamping. *Can Anaesth Soc J.* 1983;30:480-486
- 72- Grindlinger GA, Vegas AM, Manny J, Bush HL, Mannick JA, Hechtman HB. Volume

- loading and vasodilators in abdominal aortic aneurysmectomy. *Am J Surg.* 1980;139:480-486.
- 73- Gelman S, Bredle DL, Bradley WE, Cain SM. Angiotensin and alpha-adrenoceptor activation play a role in hemodynamic response to aortic cross-clamping. *Am J Physiol.* 1990;259:68-73.
- 74- Quintin L, Bonnet F, Macquin I, Szekely B, Becquemin JP, Ghignone M. Aortic surgery: effect of clonidine on intraoperative catecholaminergic and circulatory stability. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1990;34:132-137.
- 75- Nielsen VG, Weinbroum A, Tan S, Samuelson PN, Gelman S, Parks DA. Xanthine oxidoreductase release after descending thoracic aorta occlusion and reperfusion in rabbits. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;107:1222-1227.
- 76- Quintin L, Bonnet F, Macquin I, Szekely B, Becquemin JP, Ghignone M. Aortic surgery: effect of clonidine on intraoperative catecholaminergic and circulatory stability. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1990;34:132-137.
- 77- 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;124:581-589.
- 78- Parks DA, Granger DN. Ischemia-induced vascular changes: role of xanthine oxidase and hydroxyl radicals. *Am J Physiol.* 1983;245:285-289.
- 79- Fyman PN, Reynolds JR, Moser F, Avitable M, Casthely PA, Butt K. Pharmacokinetics of sufentanil in patients undergoing renal transplantation. *Can J Anaesth.* 1988;35:312-315.
- 80- Korthuis RJ, Smith JK, Carden DL. Hypoxic reperfusion attenuates postischemic microvascular injury. *Am J Physiol.* 1989 ;256:315-319.
- 81- Walker PM, Lindsay TF, Labbe R, Mickle DA, Romaschin AD. Salvage of skeletal muscle with free radical scavengers. *J Vasc Surg.* 1987;5:68-75.
- 82- Parks DA, Granger DN. Ischemia-induced vascular changes: role of xanthine oxidase and hydroxyl radicals. *Am J Physiol.* 1983;245:285-289.
- 83- Kaufman RP Jr, Klausner JM, Anner H, Feingold H, Kobzik L, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Inhibition of thromboxane (Tx) synthesis by free radical scavengers. *J Trauma.* 1988;28:458-464.
- 84- Huval WV, Lelcuk S, Allen PD, Mannick JA, Shepro D, Hechtman HB. Determinants of cardiovascular stability during abdominal aortic aneurysmectomy (AAA). *Ann Surg.* 1984;199:216-222.
- 85- Seeling W, Heinrich H, Oettinger W. [The eventration syndrome: prostacyclin liberation and acute hypoxemia due to eventration of the small intestine] .*Anaesthesist.* 1986;35(12):738-43.
- 86- Blaisdell FW, Stallone RJ. The mechanism of pulmonary damage following traumatic shock. *Surg Gynecol Obstet.* 1970;130:15-22.
- 87- Ayva E. Aortik oklüzyona bağlı akciğer iskemi reperfüzyon hasarını önlemede Likopen' nin etkisi. T.C. Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı. Tıpta uzmanlık tezi Afyonkarahisar 2009
- 88- Anner H, Kaufman RP Jr, Kobzik L, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pulmonary leukosequestration induced by hind limb ischemia. *Ann Surg.* 1987;206:162-167.

- 89- Marceau F, Hugli TE. Effect of C3a and C5a anaphylatoxins on guinea-pig isolated blood vessels. *J Pharmacol Exp Ther.* 1984;230:749-754.
- 90- Bengtson A, Heideman M. Altered anaphylatoxin activity during induced hypoperfusion in acute and elective abdominal aortic surgery. *J Trauma.* 1986;26:631-637.
- 91- del Balzo U, Polley MJ, Levi R. Cardiac anaphylaxis. Complement activation as an amplification system. *Circ Res.* 1989;65:847-857.
- 92- del Balzo UH, Levi R, Polley MJ. Cardiac dysfunction caused by purified human C3a anaphylatoxin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985;82:886-890.
- 93- Stimler NP, Bach MK, Bloor CM, Hugli TE. Release of leukotrienes from guinea pig lung stimulated by C5ades Arg anaphylatoxin. *J Immunol.* 1982;128:2247-2252.
- 94- Roumen RM, van der Vliet JA, Wevers RA, Goris RJ. Intestinal permeability is increased after major vascular surgery. *J Vasc Surg.* 1993 ;17:734-737.
- 95- Goris RJ, te Boekhorst TP, Nuytinck JK, Gimbriere JS. Multiple-organ failure. Generalized autodestructive inflammation? *Arch Surg.* 1985;120:1109-1115.
- 96- Livingston DH, Mosenthal AC, Deitch EA. Sepsis and multiple organ dysfunction syndrome: a clinical-mechanistic overview. *New Horiz.* 1995;3:257-266.
- 97- Bulkley GB. Mesenteric vascular insufficiency. *Curr Probl Surg* 1997;34:943-990.
- 98- Neary P, Redmont HP. Ischemia-reperfusion injury and the systemic inflammatory response syndrome. In *ischemia-reperfusion injury*, Grace PA, Mathie RT (eds). Blackwell Science: London, 1999;123-136.
- 99- Donna L Carden, D. Neil Granner. Pathophysiology of ischemia- reperfusion injury. *J Pathol* 2000;190:255-266.
- 100- Lunn JK, Dannemiller FJ, Stanley TH. Cardiovascular responses to clamping of the aorta during epidural and general anesthesia. *Anesth Analg.* 1979;58:372-376.
- 101- Paterson IS, Klausner JM, Goldman G, Pugatch R, Feingold H, Allen P, Mannick JA, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pulmonary edema after aneurysm surgery is modified by mannitol. *Arch Surg.* 2003;138:227.
- 102- Vandermeer TJ, Maini BS, Hendershott TH, Sottile FD. Evaluation of right ventricular function during aortic operations. *Arch Surg.* 1993;128:582-585.
- 103- Kainuma M, Nishiwaki K, Shimada Y. Rise in pulmonary arterial pressure following release of aortic crossclamp in abdominal aortic aneurysmectomy. *Anesthesiology.* 1988;69:257-260.
- 104- Nath AK, Fischereder M and Hostetter H. The role of oxidants in progressive renal injury. *Kidney Int* 1994;45:111-115.
- 105- Waz WR, Feld LG. Reactive oxygen molecules in the kidney. *Adv Exp Med Biol.* 1994;366:171-183.
- 106- Baud L, Ardaillou R. Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *Br Med Bull.* 1993;49:621-629.
- 107- Andreoli SP. Reactive oxygen molecules, oxidant injury and renal disease. *Pediatr Nephrol.* 1991;5:733-742.
- 108- Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the

- rat. *J Clin Invest.* 1984;74:1156-1164.
- 109- Rubanyi GM. Vascular effects of oxygen-derived free radicals. *Free Radic Biol Med.* 1988;4:107-120.
- 110- Mojciak CF, Levy JH. Aprotinin and the systemic inflammatory response after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 2001;71:745-754.
- 111- Pintar T, Collard CD. The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Anesthesiol Clin North America.* 2003;2:453-464.
- 112- Alfayoumi F, Srinivasan V, Geller M, Gradman A. The no-reflow phenomenon: epidemiology, pathophysiology, and therapeutic approach. *Rev Cardiovasc Med.* 2005;6:7283.
- 113- Jordan JE, Zhao ZQ, Vinten Johansen J. The role of neutrophils in myocardial ischemiareperfusion injury. *Cardiovasc Res* 1999;43:860-878.
- 114- Lazarus B, Messina A, Barker JE, Hurley JV, Romeo R, Morrison WA, Knight KR. The role of mast cells in ischaemia-reperfusion injury in murine skeletal muscle. *J Pathol.* 2000;191:443-448.
- 115- Bishop GA, Hall BM. Expression of leucocyte and lymphocyte adhesion molecules in the human kidney. *Kidney Int.* 1989;36:1078-1085.
- 116- Andersen CB, Blaehr H, Ladefoged S, Larsen S. Expression of the intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in human renal allografts and cultured human tubular cells. *Nephrol Dial Transplant.* 1992;7:147-154.
- 117- Eppinger MJ, Deeb GM, Bolling SF, Ward PA. Mediators of ischemia-reperfusion injury of rat lung. *Am J Pathol.* 1997;150:1773-1784.
- 118- Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol.* 1988;255:1269-1275.
- 119- Carden DL, Young JA, Granger DN. Pulmonary microvascular injury after intestinal ischemia-reperfusion: role of P-selectin. *J Appl Physiol.* 1993;75:2529-2534.
- 120- Denton MD, Marsden PA, Lusinskas FW, Brenner BM, Brady HR. Cytokine-induced phagocyte adhesion to human mesangial cells: role of CD11/CD18 integrins and ICAM-1. *Am J Physiol.* 1991;261:1071-1079.
- 121- Kelly KJ, Williams WW Jr, Colvin RB, Meehan SM, Springer TA, Gutierrez-Ramos JC, Bonventre JV. Intercellular adhesion molecule-1-deficient mice are protected against ischemic renal injury. *J Clin Invest.* 1996;97:1056-1063.
- 122- Kelly KJ, Williams WW Jr, Colvin RB, Bonventre JV. Antibody to intercellular adhesion molecule 1 protects the kidney against ischemic injury. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91:812-816.
- 123- Kelly KJ, Toloff-Rubin NE, Rubin RH, Williams WW Jr, Meehan SM, Meschter CL, Christenson JG, Bonventre JV. An oral platelet-activating factor antagonist, Ro244736, protects the rat kidney from ischemic injury. *Am J Physiol.* 1996;271:1061-1067.
- 124- Gamulin Z, Forster A, Simonet F, Aymon E, Favre H. Effects of renal sympathetic blockade on renal hemodynamics in patients undergoing major aortic abdominal

- surgery. *Anesthesiology*. 1986;65:688-692.
- 125- Gamulin Z, Forster A, Morel D, Simonet F, Aymon E, Favre H. Effects of infrarenal aortic cross-clamping on renal hemodynamics in humans. *Anesthesiology*. 1984;61:394-399.
- 126- Colson P, Ribstein J, Seguin JR, Marty-Ane C, Roquefeuil B. Mechanisms of renal hemodynamic impairment during infrarenal aortic cross-clamping. *Anesth Analg*. 1992;75:18-23.
- 127- Symbas PN, Pfaender LM, Drucker MH, Lester JL, Gravanis MB, Zacharopoulos L. Crossclamping of the descending aorta. Hemodynamic and neurohumoral effects. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1983;85:300-305
- 128- Joob AW, Harman PK, Kaiser DL, Kron IL. The effect of renin-angiotensin system blockade on visceral blood flow during and after thoracic aortic cross-clamping. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1986 ;91:411-418.
- 129- Joob AW, Dunn C, Miller E, Freedlender A, Kron IL. Effect of left atrial to left femoral artery bypass and renin-angiotensin system blockade on renal blood flow and function during and after thoracic aortic occlusion. *J Vasc Surg*. 1987;5:329-335.
- 130- Gamulin Z, Forster A, Simonet F, Aymon E, Favre H. Effects of renal sympathetic blockade on renal hemodynamics in patients undergoing major aortic abdominal surgery. *Anesthesiology*. 1986;65:688-692.
- 131- Antonucci F, Bertolissi M, Calo L. Plasma endothelin and renal function during infrarenal aortic crossclamping and nifedipine infusion. *Lancet*. 1990;336:1449.
- 132- Stein M, James PM Jr, Kelly J, Brown D, Shircliffe AC, Patterson WE. Renal protection during aortic cross-clamping. *Am Surg*. 1972;38:681-689.
- 133- Brezis M, Rosen SN, Epstein FH. The pathophysiological implications of medullary hypoxia. *Am J Kidney Dis*. 1989;13:253-258.
- 134- Bowald S, Gerdin B. Pulmonary microembolism during and after aortic cross-clamping in heparinized and non-heparinized pigs. *Acta Chir Scand*. 1980;146:351-356.
- 135- Noirhomme P, Buche M, Louagie Y, Verhelst R, Matta A, Schoevaerds JC. Ischemic complications of abdominal aortic surgery. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 1991;32:451-455.
- 136- Abbott WM, Austen WG. The reversal of renal cortical ischemia during aortic occlusion by mannitol. *J Surg Res*. 1974 ;16:482-489.
- 137- Awad RW, Barham WJ, Taylor DN, Woodward DA, Bullen BR. The effect of infrarenal aortic reconstruction on glomerular filtration rate and effective renal plasma flow. *Eur J Vasc Surg*. 1992;6:362-367.
- 138- Myers BD, Miller DC, Mehigan JT, Olcott CO 4th, Golbetz H, Robertson CR, Derby G, Spencer R, Friedman S. Nature of the renal injury following total renal ischemia in man. *J Clin Invest*. 1984;73:329-341.
- 139- Oyama M, McNamara JJ, Suehiro GT, Suehiro A, Sue-Ako K. The effects of thoracic aortic cross-clamping and declamping on visceral organ blood flow. *Ann Surg*. 1983; 197: 459-463.
- 140- Stein M, James PM Jr, Kelly J, Brown D, Shircliffe AC, Patterson WE. Renal protection

- during aortic cross-clamping *Am Surg.* 1972;38:681-689.
- 141- Abbott WM, Austen WG. The reversal of renal cortical ischemia during aortic occlusion by mannitol. *J Surg Res.* 1974 ;16:482-489.
- 142- Pass LJ, Eberhart RC, Brown JC, Rohn GN, Estrera AS. The effect of mannitol and dopamine on the renal response to thoracic aortic cross-clamping. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1988;95:608-612.
- 143- Paul MD, Mazer CD, Byrick RJ, Rose DK, Goldstein MB. Influence of mannitol and dopamine on renal function during elective infrarenal aortic clamping in man. *Am J Nephrol.* 1986;6:427-434.
- 144- Brezis M, Rosen S, Silva P, Epstein FH. Renal ischemia: a new perspective. *Kidney Int.* 1984;26:375-383.
- 145- Brezis M, Rosen SN, Epstein FH. The pathophysiological implications of medullary hypoxia. *Am J Kidney Dis.* 1989;13:253-258.
- 146- Cantarovich F, Galli C, Benedetti L, Chena C, Castro L, Correa C, Perez Loredo J, Fernandez JC, Locatelli A, Tizado J. High dose frusemide in established acute renal failure. *Br Med J.* 1973;24:449-450.
- 147- Bush HL Jr, Huse JB, Johnson WC, O'Hara ET, Nabseth DC. Prevention of renal insufficiency after abdominal aortic aneurysm resection by optimal volume loading. *Arch Surg.* 1981;116:1517-1524.
- 148- Berkowitz HD, Shetty S. Renin release and renal cortical ischemia following aortic cross clamping. *Arch Surg.* 1974;109:612-617.
- 149-Sato H, Zhao ZQ, Todd JC, et al. Basal nitric oxide expresses endogenous cardioprotection during reperfusion by inhibition of neutrophil-mediated damage after surgical revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997;113:399-409.
- 150- Worrall NK, Chang K, Lejeune WS, et al. TNF- α causes reversible in vivo systemic vascular barrier dysfunction via NO-dependent and-independent mechanisms. *Am J Physiol* 1997;273:2565-2574.
- 151- Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991;88:4651-4655.
- 152-Baylis C, Bloch J. Nitric oxide (NO) in renal physiology and pathophysiology. *Nephrol Dial Transplant.* 1996;11:1955-1957.
- 153- Fremont L. Biological effects of resveratrol. *Life Sci* 2000;66:663-673.
- 154- de la Lastra CA, Villegas I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. *Biochem Soc Trans.*2007;35:1156-1160.
- 155- Das DK, Maulik N. Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine. *Mol Interv.* 2006;6:36-47.
- 156-Signorelli P, Ghidoni R. Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. *J Nutr Biochem.* 2005;16:449-466.
- 157- Signorelli P, Ghidoni R. Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. *J Nutr Biochem.* 2005;16:449-466.

- 158-Walle T, Hsieh F, Delege M. High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metab Dispos.* 2004;32:1377-1382.
- 159- Signorelli P, Ghidoni R. Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. *J Nutr Biochem.* 2005;16:449-466.
- 160-Fremont L. Biological effects of resveratrol. *Life Sci* 2000; 66:663-673.
- 161- Frankel EN, Waterhouse AL, Kinsella JE. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Lancet* 1993; 34:1103-1104.
- 162-Belguendouz L, Fremont L, Linard A. Resveratrol inhibits metal ion-dependent and independent peroxidation of porcine low-density lipoproteins. *Biochem Pharmacol* 1997; 53:1347-1355.
- 163-Laden BP, Porter TD. Inhibition of human squalene monooxygenase by tellurium compounds: evidence of interaction with vicinal sulfhydryls. *J Lipid Res* 2001;42:235-240.
- 164- Laden BP, Porter TD. Inhibition of human squalene monooxygenase by tellurium compounds:evidence of interaction with vicinal sulfhydryls. *J Lipid Res* 2001;42:235-240.
- 165-Chanvitayapongs S, Draczynska-Lusiak B, Sun AY. Amelioration of oxidative stress by antioxidants and resveratrol in PC12 cells. *Neuroreport* 1997;8:1499-1502.
- 166- Li HF, Chen SA, Wu SN. Evidence for the stimulatory effect of resveratrol on Ca(2+)-activated K+ current in vascular endothelial cells. *Cardiovasc Res* 2000;45:1035-1045.
- 167- Lin JK, Tsai SH. Chemoprevention of cancer and cardiovascular disease by resveratrol. *Proc Natl Sci Counc Repub China B* 1999;23:99-106.
- 168- Hsieh TC, Juan G, Darzynkiewicz Z, Wu JM. Resveratrol increases nitric oxide synthase, induces accumulation of p53 and p21(WAF1/CIP1), and suppresses cultured bovine pulmonary artery endothelial cell proliferation by perturbing progression through S and G2. *Cancer Res* 1999;59:2596-2601.
- 169- Ray PS, Maulik G, Cordis GA, Bertelli AA, Bertelli A, Das DK. The red wine antioxidant resveratrol protects isolated rat hearts from ischemia reperfusion injury. *Free Radic Biol Med* 1999;27:160-169.
- 170-Naderali EK, Doyle PJ, Williams G. Resveratrol induces vasorelaxation of mesenteric and uterine arteries from female guinea-pigs. *Clin Sci (Lond)* 2000 May;98(5):537-543.
- 171-Naderali EK, Smith SL, Doyle PJ, Williams G. The mechanism of resveratrol-induced vasorelaxation differs in the mesenteric resistance arteries of lean and obese rats. *Clin Sci (Lond)* 2001;100:55-60.
- 172- Budak A B. Resveratrolün aortik kros klemp sonrası uzak organ hasarı üzerine etkileri. T.C. sağlık bakanlığı Türkiye yüksek ihtisas eğitim ve araştırma hastenesi kalp ve damar cerrahisi kliniği. Tıpta uzmanlık tezi. Ankara. 2007.
- 173-Das DK, Maulik N. Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine. *Mol Interv.* 2006;6:36-47.
- 174-Csiszar A, Smith K, Labinskyy N. Resveratrol attenuates TNF- α induced activation of coronary arterial endothelial cells: role of NF- κ B inhibition. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;291:1694-1699.

- 175-Ungvari Z, Orosz Z. Resveratrol increases vascular oxidative stress resistance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;292:2417-2424.
- 176-Sivarajah A, Chatterjee PK, Hattori Y, Brown PA, Stewart KN, Todorovic Z, Mota-Filipe H, Thiemermann C. Agonists of peroxisome-proliferator activated receptor- α (clofibrate and WY14643) reduce renal ischemia/reperfusion injury in the rat. *Med Sci Monit* 2002;8:532-539.
- 177-Asaga T, Ueki M, Chujo K, Taie S Asaga T, Ueki M, Chujo K, Taie S JTE-607, an inflammatory cytokine synthesis inhibitor, attenuates ischemia/reperfusion-induced renal injury by reducing neutrophil activation in rats. *J Biosci Bioeng.* 2008;106:22-26.
- 178- Nishiyama J, Ueki M, Asaga T, Chujo K, Maekawa N. Protective action of D-ribose against renal injury caused by ischemia and reperfusion in rats with transient hyperglycemia. *Tohoku J Exp Med.* 2009;219:215-222.
- 179- Saito M, Satoh S, Kojima N, Tada H, Sato M, Suzuki T, Senoo H, Habuchi T. Effects of a phenolic compound, resveratrol, on the renal function and costimulatory adhesion molecule CD86 expression in rat kidneys with ischemia/reperfusion injury. *Arch Histol Cytol.* 2005;68:41-49.
- 180-Kiziltepe U, Turan NN, Han U, Ulus AT, Akar F. Resveratrol, a red wine polyphenol, protects spinal cord from ischemia-reperfusion injury. *J Vasc Surg.* 2004;40:138-145.
- 181-Kaplan S, Bisleri G, Morgan JA, Cheema FH, Oz MC. Resveratrol, a natural red wine polyphenol, reduces ischemia-reperfusion-induced spinal cord injury. *Ann Thorac Surg.* 2005;80:2242-2249.
- 182-Tsai SK, Hung LM, Fu YT, Cheng H, Nien MW, Liu HY, Zhang FB, Huang SS. Resveratrol neuroprotective effects during focal cerebral ischemia injury via nitric oxide mechanism in rats. *J Vasc Surg.* 2007;46:346-353.
- 183-Lu S, Wang X, Wen L, Han Z, Tao T, Guan D. Effect of superoxide dismutase on adhesion molecules expression in skeletal muscle ischemia/reperfusion injury in rats *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2002;82:840-843.
- 184-Baker GL, Corry RJ, Autor AP. Oxygen free radical induced damage in kidneys subjected to warm ischemia and reperfusion. Protective effect of superoxide dismutase. *Ann Surg.* 1985;202:628-641.
- 185- Hoch JR, Stevens RP, Keller MP, Silver D. Recovery of neuromuscular function during reperfusion of the ischemic extremity: effect of mannitol and superoxide dismutase. *Surgery.* 1991;110:656-662.
- 186-Bhalodia Y, Kanzariya N, Patel R, Patel N, Vaghasiya J, Jivani N, Raval H. Renoprotective activity of benincasa cerifera fruit extract on ischemia/reperfusion-induced renal damage in rat. *Iran J Kidney Dis.* 2009;3:80-85.
- 187-Yuan GJ, Ma JC, Gong ZJ, Sun XM, Zheng SH, Li X. Modulation of liver oxidant-antioxidant system by ischemic preconditioning during ischemia/reperfusion injury in rats. *World J Gastroenterol.* 2005;11:1825-1828.
- 188- Gedik E, Girgin S, Ozturk H, Obay BD, Ozturk H, Buyukbayram H. Resveratrol attenuates

- oxidative stress and histological alterations induced by liver ischemia/reperfusion in rats. *World J Gastroenterol.* 2008;14:7101-7106.
- 189-Mouton R, Holder K. Laboratory tests of renal function *Anaesthesia And Intensive Care Medicine* 2006;7:240-243.
- 190- Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, et al. Serum cystatin C measured by automated immunoassay : a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int.* 1995;47:312-318
- 191-Randers E, Krue S, Erlandsen E.J, et al. serum cystatin C as an endogen marker of renal functions a review. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:389-395
- 192- Herget-Rosenthal S, Pietruck F, Volbracht L, et al. Serum cystatin C a superior marker of rapidly reduced glomerular filtration after uninephrectomy in kidney donors compared to creatinine. *Clin Nephrol* 2005;64:41-46
- 193-Ahlstrom A, Tallgren M, Peltanen S, Pettila V. Evaluation and predictive power of serum cystatine C in acute renal failure. *Clin Nephrol* 2004;62:344-350
- 194-Aggarwal BB, Kohr WS, Hass PE. Human Tumor Necrosis Factor. *J Biol Chem* 1992;260:2345-2352.
- 195-Sadis C, Teske G, Stokman G, Kubjak C, Claessen N, Moore F, Loi P, Diallo B, Barvais L, Goldman M, Florquin S, Le Moine A. Nicotine protects kidney from renal ischemia/reperfusion injury through the cholinergic anti-inflammatory pathway. *PLoS One.* 2007;2:469.