



T.C
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
İZZET BAYSAL TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA BÖBREK İSKEMİ-REPERFÜZYON
HASARINDA PROFLAKTİK KALSİYUM
DOBESİLATIN ETKİNLİĞİ**

Dr. Ali AKKOÇ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

BOLU- 2010

T.C
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
İZZET BAYSAL TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA BÖBREK İSKEMİ-REPERFÜZYON
HASARINDA PROFLAKTİK KALSİYUM
DOBESİLATIN ETKİNLİĞİ**

Dr. Ali AKKOÇ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ahmet METİN

BOLU- 2010

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tezimin hazırlanmasında bilgi, deneyim ve yardımlarını esirgemeyen, kendisinden çok şey öğrendiğim, desteğini daima yanımda hissettiğim ve bundan sonra da hissedeceğim tez danışman hocam ve Üroloji Anabilim Dalı Başkanımız;

Prof. Dr. Ahmet METİN'e

Anabilim Dalımız öğretim üyesi *Doç. Dr. Engin KANDIRALI'ya ve Doç. Dr. Muzaffer EROĞLU'ya*; şu an aramızda olmayan değerli hocam *Prof. Dr. Atilla SEMERCİÖZ'e*; bölüm arkadaşlarım *Dr. Emre ULUKARADAĞ, Dr. Ömer Faruk YAĞLI, Dr. Mevlüt YILDIZ, Dr. Güven AKIN* ve şu an aramızda olmayan *Dr. Bülent UYSAL'a*; poliklinik görevlimiz *Mehmet YÜCEL'e*,

Patoloji AD'dan *Prof. Dr. Fahri YILMAZ, Dr. Serdar YANIK* ve tüm patoloji personeline,

Biyokimya AD'dan *Doç. Dr. Erdiç SERİN ve Dr. Fatih ÖZCAN'a*

Tez çalışmam sırasında bana Anabilim Dallarını açan, benden ilgi ve yardımlarını esirgemeyen; Histoloji AD'dan *Prof. Dr. Aysel KÜKNER*, ekibi ve dekanlık personeli *Remzi ULUSOY'a*,

Tez çalışmamda gerek istatistik gerek tezin hazırlanması aşamasında desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım *Dr. Murat DIRAMALI'ya*,

Yetişmemde büyük emeği olan, hakkını ödeyemeyeceğim *Aileme ve Dostlarıma*,

Uzmanlık eğitimim boyunca desteğini hep yanımda hissettiğim; bana ilk kez gerçek sevgiyi tattıran *Biricik Eşim Gülşah'a*

TEŞEKKÜRLERİMLE...

Dr. Ali AKKOÇ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ŞEKİLLER	vi
TABLolar	viii
GRAFİKLER	ix
ÖZET	x
İNGİLİZCE ÖZET(ABSTRACT)	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Böbrek Anatomisi	3
2.2. Böbrek Fizyolojisi	6
2.3. Böbrek Kan Akımı	7
2.4. Böbrek Histolojisi	9
2.5. Böbrek Fonksiyonları	13
2.6. İskemi-Reperfüzyon Hasarı	13
2.7. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Patofizyolojisi	14
2.8. Hücre İçi Kalsiyum Artışı	20
2.9. Serbest Oksijen Radikalleri	21
2.10. Nitrik Oksit	22
2.11. İskemik Ön Koşullanma	23
2.12. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Önlenmesi ve Tedavisi	24
2.13. Kalsiyum Dobesilat	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
4. BULGULAR	42
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
7. KAYNAKLAR	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

ANOVA	: Analysis of variance
AVMA	: American Veterinary Medical Association
CAT	: Karnitin asetil transferaz
DMSO	: Dimetil sülfoksit
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
GPx	: Glutasyon peroksidaz
H&E	: Hematoksilen-Eozin
IQR	: Interquartile Range
İRH	: İskemi-reperfüzyon hasarı
MDA	: Malondialdehid
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentetaz
PAS	: Platelet aktive eden faktör
PAS	: Periodik asit schiff
PG	: Prostaglandin
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
VCİ	: Vena cava inferior

ŞEKİLLER

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Böbreğin içyapısı	4
2.2 Böbreğin arteriyal yapısı	5
2.3 Sağ böbreğin segmental dolaşımı	5
2.4 İskemi-reperfüzyon hasarı oluşma mekanizmaları	15
2.5 İskemi reperfüzyon hasarı oluşma mekanizmaları	16
3.1 Cerrahi öncesi hazırlık	30
3.2 Laparotomi sonrası barsağın mediale alınması ile sağ böbrek, böbrek pedikülü ve vena kavanın görünür hale gelmesi.	30
3.3 Mikrovasküler klemple sıcak iskemi modeli oluşturulmuş sağ böbrek(grupII)	32
3.4 Mikrovasküler klemple sıcak iskemi modeli oluşturulmuş sağ böbrek (grupIII)	33
3.5 İskemi modeli sonrası reperfüzyon oluşturulmuş sağ böbrek	33
3.6 VCI'dan biyokimyasal çalışma için kan alınması	34
3.7 VCI ve VCI'dan alınmakta olan kan örneği	34
3.8 İskemi-Reperfüzyon hasarı sonrası nefrektomi yapılmış sağ böbrek ve nefrektomi yapılmış non-iskemik sol böbrek	35
4.1 Sham grubuna ait normal veya normale yakın böbrek dokusu (H&E x100)	51
4.2 Kontrol grubundaki epitelyal hücre düzleşmesi (HE x 200)	51
4.3 Kontrol grubundaki sitoplazmik vakuolizasyon (H&E x200)	52
4.4 Kontrol grubundaki kronik inflamasyon (HE x 100)	52

4.5	Kontrol grubundaki nekroz (siyah ok) ve tübüler lümen obstrüksiyonu (kırmızı ok) görüntüsü (HE x 200)	53
4.6	Tedavi grubunda sham grubuna benzer histopatolojik bulgular (HE x 200)	53

TABLOLAR

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Serbest Oksijen Radikal Kaynakları	15
2.2 İRH’da Rol Alan Mediatorler	17
2.3 Sitoprotektif Etki Gösteren Kimyasal Ajanlar	25
3.1 Eritrosit SOD aktivitesinin ölçümü	37
3.2 GPx aktivitesi ölçümü	39
4.1 Üre değerlerinin deney gruplarına göre tanımlayıcı değerleri ve karşılaştırma sonuçları	42
4.2 Kreatinin deney gruplarına göre tanımlayıcı değerleri ve karşılaştırma sonuçları	43
4.3 Kreatin değerinin deney gruplarına göre post-hoc ikili karşılaştırma sonuçları	43
4.4 SOD’ un deney gruplarına göre tanımlayıcı değerleri ve karşılaştırma sonuçları	44
4.5 GPx’ in deney gruplarına göre tanımlayıcı değerleri ve karşılaştırma sonuçları	45
4.6 Kronik inflamasyon parametresinin deney gruplarına göre dağılımı	46
4.7 Tübüler epitelyal hücre düzleşmesi parametresinin deney gruplarına göre dağılımı	47
4.8 Sitoplazmik vakuolizasyon parametresinin deney gruplarına göre dağılımı	48
4.9 Hücre nekrozu parametresinin deney gruplarına göre dağılımı	49
4.10 Tübüler lümen obstrüksiyonu parametresinin deney gruplarına göre dağılımı	50

GRAFİKLER

<u>Grafik</u>	<u>Sayfa</u>
4.1 Deney gruplarına göre üre değerlerinin ortancaları	42
4.2 Deney gruplarına göre kreatin değerlerinin ortancaları	43
4.3 Deney gruplarına göre SOD değerlerinin ortalamaları	44
4.4 Deney gruplarına göre GPX değerlerinin ortalamaları	45
4.5 Kronik inflamasyon parametresinin deney gruplarına göre dağılımı	46
4.6 Tübüler epitelyal hücre düzleşmesi parametresinin deney gruplarına göre dağılımı	47
4.7 Sitoplazmik vakuolizasyon parametresinin deney gruplarına göre dağılımı	48
4.8 Hücre nekrozu parametresinin deney gruplarına göre dağılımı	49
4.9 Tübüler lümen obstrüksiyonu parametresinin deney gruplarına göre dağılımı	50

ÖZET

Çalışmamızda sağ böbrekte deneysel iskemi reperfüzyon hasarında proflaktik kalsiyum dobesilatın etkinliğini histolojik ve biyokimyasal olarak araştırdık.

Wistar-Albino 24 erkek rat her grupta 8 rat olacak şekilde 3 gruba ayrıldı; sham grubu (grup I), iskemi-reperfüzyon (I/R) grubu (grup II) ve tedavi (I/R+Kalsiyum dobesilat) grubu (grup III). İskemi-reperfüzyon işlemi öncesi grup III'e 10 gün boyunca 100 mg/kg/gün kalsiyum dobesilat gavaj yolu ile verildi. Sham grubu haricindeki gruplara 45 dakika iskemi ve 24 saat reperfüzyon uygulandı. Üre ve kreatinin düzeyleri plazmada, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz enzim aktivite düzeyleri eritrositlerde çalışıldı. Ayrıca böbrek dokusundaki histopatolojik değişiklikler çalışıldı.

Grup II'de ortalama SOD ve GPx düzeyleri Grup I ve Grup III'den daha yüksekti, ancak istatistiksel anlamlı değildi. Grup III'de kreatinin düzeyleri Grup I ve Grup II'den istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü. Ortalama üre değerleri Grup III'de Grup I ve Grup II'den daha düşüktü ancak istatistiksel olarak anlamsızdı. Histopatolojik incelemeler; tübüler epitelyal hücre düzleşmesi, kronik inflamasyon, sitoplazmik vakuolizasyon, hücre nekrozu ve tübüler lümen obstrüksiyonu gibi böbrek hasarında gözlenen histopatolojik değişikliklerin Grup II'de Grup I'den istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek olduğunu gösterdi. Grup III'de hücre nekrozu haricindeki histopatolojik değişiklikler Grup II'den istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü.

Çalışmanın sonuçları, iskemi-reperfüzyonun neden olduğu böbrek hasarında proflaktik kalsiyum dobesilatın koruyucu etkileri olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Kalsiyum dobesilat, proflaktik, renal iskemi- reperfüzyon*

ABSTRACT

Akkoç A. “The effects of prophylactic calcium dobesilate in experimental renal ischemia reperfusion injury”. Abant Izzet Baysal University, Medical Faculty, Speciality Thesis in Urology, Bolu, 2010.

In this study, we investigated the effects of prophylactic calcium dobesilate (Ca-D) in experimental right renal ischemia-reperfusion (I/R) in rats histologically and biochemically.

Male 24 Wistar-Albino rats were divided into three groups each has eight rats; sham group (group 1), I/R group (group 2) and I/R+ Ca-D group (group 3). 100 mg/kg Ca-D was given to rats in group 3 through gastric gavage for ten days before ischemia and reperfusion process. Thirty minutes of renal ischemia and 24 hours reperfusion were measured in all groups except sham group. The levels of urea and creatinin were examined in plasma. The enzyme activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) were examined in the erythrocytes. Histopathological changes were also studied in the kidney tissue.

The median levels of SOD and GPx in the I/R group were found higher than the levels in the sham and I/R+ Ca-D group but it wasn't statistically significant. The levels of creatinin in the I/R+ Ca-D group were significantly lower than the levels in the I/R and sham group ($p<0.05$). The median levels of urea in the I/R+ Ca-D group were lower than the levels in the I/R and sham groups but it wasn't statistically significant. Histopathological examinations showed that the histopathologic changes in the kidney injury (tubuler epithelial cell flattening, chronic inflammation, cytoplasmic vacuolization, cell necrosis and tubular lumen obstruction) in the I/R group were significantly higher than the control group ($p<0.05$). The histopathologic changes except cell necrosis in the I/R+ Ca-D group were significantly lower than in the IR group ($p<0.05$).

The results of this study indicate that prophylactic calcium dobesilate has protective effects on kidney injury caused by renal ischemia-reperfusion.

Keywords: *Calcium dobesilate, prophylactic, renal ischemia-reperfusion*

1. GİRİŞ

Son yıllarda böbrek nakli, böbrek travması, anatrofik nefrolitotomi, nefron koruyucu cerrahi, renal arter cerrahisi ve suprarenal aortik anevrizmaların cerrahi tedavisi gibi böbrek kan akımını azaltan cerrahi girişimlerin yaygınlaşmasıyla birlikte renal iskemi-reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan bir patolojiden sıkça bahsedilir olmuştur. Canlı dokulardaki aerobik metabolizmanın devamı için gereken miktarda oksijen sağlanamamasına 'iskemi' adı verilmektedir. Bu iskemik periyod sonrasında, kesilmiş olan kan akımının tekrar sağlanması ise 'reperfüzyon' olarak adlandırılmaktadır.

İskemiye maruz kalan organın reperfüzyonuyla ortama giren oksijenin, kendi metabolizmasının kontrolünün bozulmasıyla toksik etkili serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşmakta ve mevcut dokuda iskemi-reperfüzyon hasarı denen patolojiye neden olmaktadır. İskemi-reperfüzyon hasarından, açığa çıkan SOR'ların yanı sıra, ayrıca iskemi sırasında hücre içine giren kalsiyumun çeşitli proteazları ve fosfolipaz A2' yi aktive etmesi de sorumlu tutulmaktadır.

İskemiye maruz kalan organlarda tedavinin yolu, kan akımını artırmak yani reperfüzyondur. Ancak bu durumda da kaçınılmaz olarak reperfüzyon hasarı denen patoloj meydana gelmektedir. Bu durumda kanlanmanın artırılması kaçınılmaz olduğuna göre, çalışmalar reperfüzyon hasarının önlenmesine yönelik olmalıdır.

Çeşitli nedenlerle böbrekte oluşan iskemi-reperfüzyon hasarını engellenmesi veya azaltılması amacıyla melatonin, E vitamini, C vitamini, amrinon gibi fosfodiesteraz tip 3 enzim inhibitörleri, adenosin, iloprost gibi platelet agregasyon inhibitörü olan prostasiklin analogu, beta karoten, aprotinin, karnitin, n-asetil sistein, nitrik oksit (NO), kalsiyum kanal blokerleri gibi birçok ajan kullanılmıştır.

Sentetik bir ilaç olan kalsiyum dobesilat (2,5-dihidroksibenzen sulfonat), ülkemizde kronik venöz yetersizlik tedavisinde ruhsatlı olup, yaklaşık 20 yıldır alt ekstremitte venöz yetmezliklerinde ve diyabetik retinopatide klinik olarak kullanılmaktadır. Ayrıca tedaviye yardımcı olarak arterio-venöz kaynaklı sirkülasyon bozukluklarında ve hemoroidal rahatsızlıklarda da kullanılmaktadır. Kalsiyum

dobesilat (Doxium® 500mg kapsül, Abdi İbrahim İlaç Sanayi, Türkiye) kapiller damarlar üzerine selektif etki göstererek kapiller damarların direncini artırıp, hiperpermeabilitesini azaltmak; lenfatik sisteme etki ederek lenf akımını artırmak; kan seviyesinde trombosit agregasyonu ve trombogenezi inhibe etmek, kan hiperviskozitesini düşürmek, eritrositlerin agregasyonunu ve rijiditesini azaltmak gibi etkileri sonucu kan stazını, vasküler tıkanıklığı ve iskemiği önlemektedir.

Tüm bu özelliklerini gözönüne alarak böbrek iskemi reperfüzyon hasarında profilaktik olarak uygulanan kalsiyum dobesilatın etkinliğini, deneysel bir çalışmayla araştırmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Böbrek Anatomisi

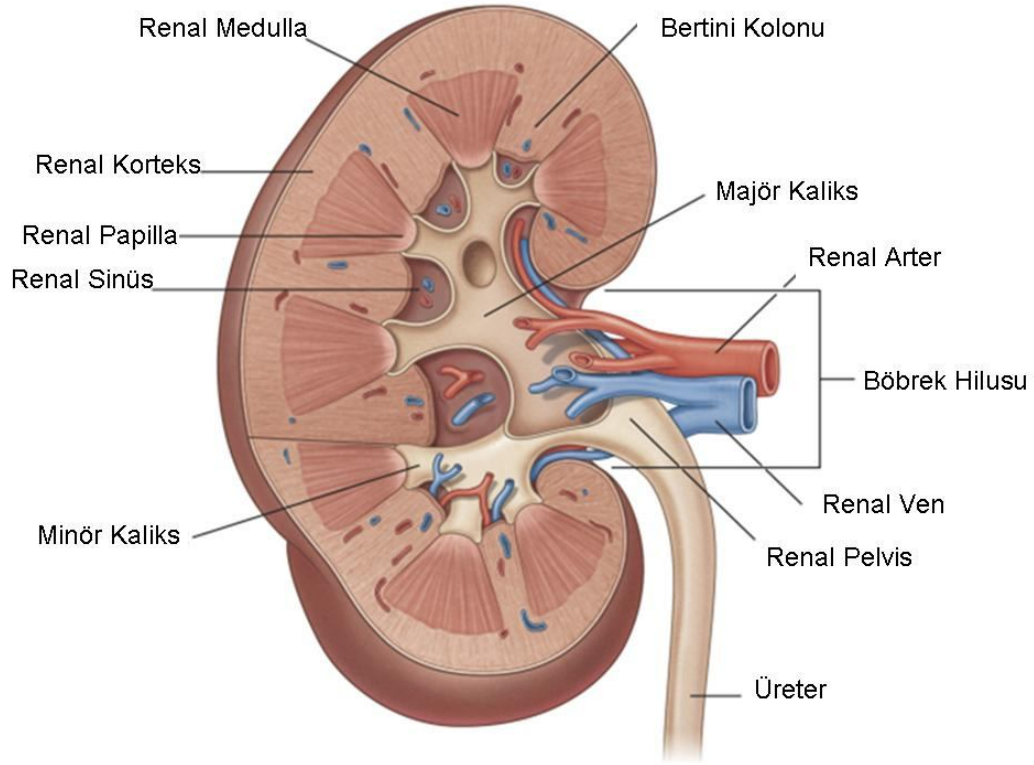
Böbrekler çift organlar olup, retroperitoneal alanda vertebral kolonun yanlarında, onikinci torakal ve üçüncü lumbal vertebralar seviyesinde bulunurlar. Sağ böbrek, sola oranla bir miktar daha aşağıda bulunur. Böbreğin uzunluğu 12 cm, genişliği 5-7 cm, kalınlığı 3-4 cm kadardır. Ağırlığı yetişkin erkeklerde ortalama 150 gr, kadınlarda 125 gr kadardır, böbreğin ön ve arka olmak üzere iki yüzü, iç ve dış iki kenarı, üst ve alt iki ucu vardır. Yüzlerden her ikisi de konvektir. İç kenarın ortasında hilus renalis denen bir yarık vardır. Buradan böbreğin içinde bulunan ve sinüs renalis denilen boşluğa girilir^[1,2,3] (Şekil 2.1).

Böbreğin hilusunu oluşturan bu alanda böbreğe giren ve çıkan damar ve sinirler, renal pelvis ve bunların arasını dolduran yağ dokusu bulunur. Bu oluşumların hilustaki sıralanışı önde renal ven, bunun arkasında renal arter ve en arkada renal pelvis şeklindedir. Lenf damarları renal pelvisin, sinirler ise renal arterin etrafında bulunurlar.

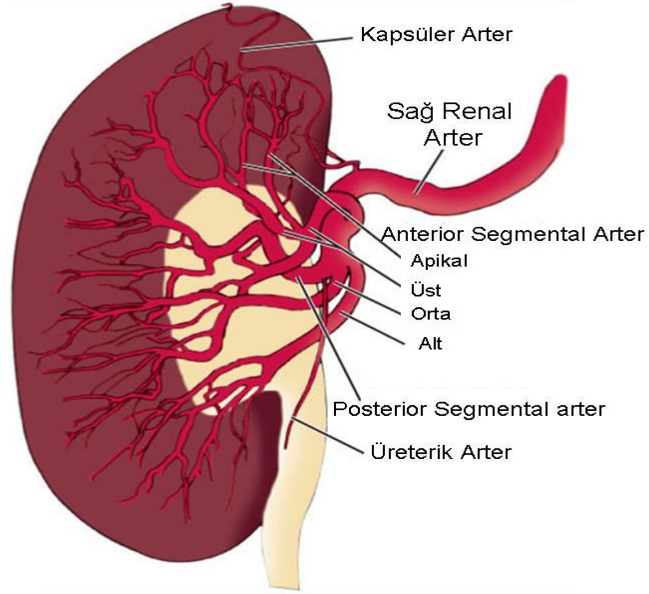
Böbrekler uzun ekseninden ikiye kesilecek olursa dış kısmında korteks, iç kısmında medulla denilen iki ana bölge ayırdedilir. Böbreğin medullasında böbrek piramidleri denen koni biçimli çok sayıda doku kitleleri bulunur. Piramidlerin tabanı korteks ile medulla sınırından başlar ve üreterin huni biçimli üst ucunun devamından oluşan böbrek pelvisinin devamına doğru uzanan papillada son bulur. Pelvisin dış sınırı majör kaliks denilen açık ceplerle aşağı doğru uzanır ve her papillada tüplerden idrar toplayan minör kalikslere ayrılır. Kalikslerin, pelvisin ve üreterlerin duvarları idrarı mesaneye doğru ilerletebilen kasılabilir elemanları içerir^[4].

Renal arter hilum bölgesinden böbrek veni ve üreterler ile birlikte böbreğe girer ve interlober, arkuat, interlobuler (radial arter) arterlere ve afferent arteriollere ayrılır. Afferent arterioller, glomerüler kapillerleri oluşturur. Her glomerül kapillerinin distal ucu, böbrek tübüllerini çevreleyen ve peritübüler kapiller denilen ikinci bir kapiller ağı oluşturan efferent arteriyolu oluşturmak için bir araya gelirler. Peritübüler kapillerler arteriyoler damarlara paralel seyreden venöz sistemin

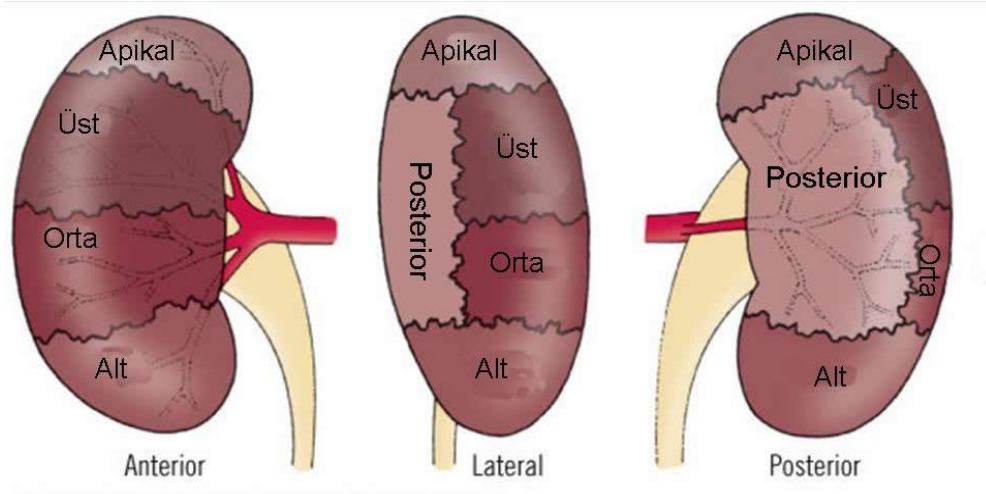
damarlarına boşalırlar ve bunlar da sırasıyla interlobüler ven, arkuat ven, interlobar ven ve en sonunda böbreği renal artere komşu olarak terkeden böbrek venini oluştururlar^[5,6] (Şelil 2.2- 2.3).



Şekil 2.1: Böbreğin iç yapısı



Şekil 2.2: Böbreğin arteriyal yapısı



Şekil 2.3: Sağ böbreğin segmental dolaşımı

2.2 Böbrek Fizyolojisi

İnsanda her böbrek bir milyon kadar nefrondan oluşur. Böbrek hasarı, hastalık veya yaşlanma ile nefron sayısı giderek azalır. 40 yaşından sonra işlev gören nefron sayısı her on yıl için %10 azalır. Her nefronun; kandan büyük miktarda sıvının filtre olduğu glomerül ve filtre edilen sıvının idrara dönüştüğü toplayıcı tübül olmak üzere iki ana bölümü vardır.

Glomerül, diğer kapiller ağlar ile karşılaştırıldığında, daha yüksek hidrostatik basınca (60 mmHg) sahip, dallanan ve anastomoz yapan kapiller bir ağdan oluşmuştur. Glomerüller kapillerler epitel hücreleri ile örtülmüştür ve tüm glomerüller Bowman kapsülü ile sarılmıştır. Glomerüller kapillerden filtre olan sıvı Bowman kapsülü içine ve sonra böbrek korteksinde yer alan proksimal tübül içine akar. Sıvı proksimal tübülden böbrek medullasının derinliklerine doğru inen henle kıvrımına akar. Henle kıvrımının bir inen bir de çıkan kolu vardır. Çıkan kolun sonunda, duvarında bir plak içeren kısma makula densa denir. Bu kısım nefron fonksiyonunun kontrolünde rol oynar. Sıvı makula densadan distal tübüle ulaşır. Distal tübülü birleştirici (connecting) tübül ve kortikal toplayıcı (collecting) tübül izler. Sıvı buradan kortikal toplayıcı kanala ulaşır. 8-10 adet kortikal toplayıcı kanalın başlangıç kısımları birleşerek, medullada seyreden ve medüller toplayıcı kanal denilen daha geniş bir toplayıcı kanal yaparlar. Toplayıcı kanallar sonunda papillanın tepesi aracılığı ile böbrek pelvisine boşalırlar^[4].

Glomerüler filtrasyon, maddelerin böbrek tübüllerinden kana geri emilimi ve kandan maddelerin böbrek tübüllerine sekresyonu işlemleri sonucunda böbreklerin süzme fonksiyonu gerçekleştirilir.

İdrar oluşumu; proteinsiz fazla miktarda sıvının glomerüler kapillerden Bowman kapsülü içine filtrasyonu ile başlar. Proteinler hariç plazmadaki maddelerin çoğu serbestçe Bowman kapsülü içine filtre olduğu için, Bowman kapsülü içindeki glomerüler filtratta bu maddelerin konsantrasyonları plazmadakine eşittir. Filtre olan sıvı Bowman kapsülünü terkedip tübüller boyunca ilerlerken içindeki spesifik solütlerin ve suyun geri emilerek kana geçmesi veya başka

maddelerin peritübüler kapillerden tübül içine salgılanması nedeniyle değişikliğe uğrar^[4,7,8].

Glomerüler filtrasyon hızı (GFR) ; kapiller membrana etki eden kolloid osmotik basınç ve hidrostatik basınç arasındaki denge ile kapillerin filtrasyon yapan yüzey ve geçirgenliğinin ölçütü olan kapiller filtrasyon sabitesi tarafından tayin edilir. Normal yetişkin bir insanda GFR 125 ml/dakikadır.

Glomerüler kapiller membran; kapiller endoteli, bazal membran ve bazal membranın dış yüzeyini çevreleyen epitelyal hücre (podosit) tabakasından oluşmaktadır. Bu tabakalar birlikte filtrasyon bariyerini oluşturur. Glomerüler kapiller membrandan yüksek filtrasyon hızı kısmen membranın kendine has özelliklerine bağlıdır. Kapiller endotelium pencere denilen binlerce küçük oyuk ile delinmiştir. Endoteli bir bazal membran çevreler. Arasından su ve küçük solitlerin geçebileceği genişlikte mesafe bulunan kollagen ve proteoglikan fibril ağından yapıldığı için, bol miktarda ve küçük maddeleri filtre edebilir. Bazal membranın plazma proteinlerinin geçişini etkin bir şekilde önlemesinin kısmen sebebi, proteoglikanların güçlü negatif elektrik yüküne sahip olmalarıdır. Glomerüler membranın son kısmı glomerülün dış yüzünü döşeyen epitelyal hücrelerdir. Bu hücreler kesintisiz değildir, kapillerin dış yüzünü çevreleyen podositler vardır. Bu ayaksı çıkıntılar glomerüler filtratın geçtiği dar, por denen aralıklarla birbirinden ayrılmıştır. Her ne kadar epitelyal hücreler filtrata engel teşkil etseler de, plazma proteinlerine esas direnci bazal membran oluşturuyor gibi görünmektedir^[7,8,9].

2.3. Böbrek Kan Akımı

70 kg'lık normal bir insanda her iki böbreğe giden kanın miktarı dakikada 1200 ml veya kalp debisinin %21 kadardır. Böbreğe gelen kanın çoğu renal korteks tarafından almaktadır. Böbrek medullasına giden kan, peritubuler kapiller sistemin özelleşmiş bir kısmı olan vaza rekta tarafından sağlanır. Bu damarlar medullada Henle kıvrımlarına paralel olarak derinlere ilerler ve sonra kortekse dönerek venöz sisteme dökülürler. Vaza rektalar böbreklerin konsantre idrar yapmasında önemli rol oynarlar^[4,5,6].

Böbrek kan akımının ve glomerüler filtrasyonun fizyolojik kontrolünde birçok faktör rol oynar. Afferent ve efferent arteriyoller de dahil olmak üzere bütün böbrek damarları, özellikle sempatik sinir liflerinden zengindir. Böbrek sempatik sinirlerinin kuvvetli aktivasyonu, böbrek arteriyollerini daraltabilir ve böbrek kan akımı ve GFR'yi azaltabilir. Bu savunma reaksiyonu, renal medulladan salınan epinefrin ve norepinefrin aracılığı ile, beyin iskemisi veya ağır hemorajide oluşabilir. Endotelin ise, böbrek damarlarının hasar görmüş endotel hücrelerinden salınır, GFR'yi azaltır ve böbrek vazokonstriksiyonuna katkıda bulunur. Güçlü bir damar daraltıcı olan Anjiotensin II efferent arteriyolleri daraltarak etkili olur.

Endotelden kaynaklanan nitrik oksit, böbrek damar direncini azaltır ve GFR'yi artırır. Damarları genişleten ve böbrek kan akımı ile GFR'yi artıran diğer otokoidler PGE₂, PGI₂ ve bradikininidir. Prostaglandinler afferent arteriyollerin daralmasını önleyerek GFR ve renal kan akımında aşırı bir azalmayı engelleyebilir. Hacim azalması veya cerrahi girişim gibi stres koşullarında aspirin gibi PG sentez inhibitörü ilaçlar GFR'de önemli azalmaya neden olurlar^[5,6].

Arteriyel kan basıncında belirgin değişikliklere karşın böbrek içi feedback mekanizmalar normalde böbrek kan akımını ve GFR'yi oldukça sabit tutarlar. Bu oto-regülasyon olarak adlandırılmaktadır. Bu sayede, kan basıncında 75 mmHg'ye varan düşmeler ve 160 mmHg'ye varan yükselmeler GFR'de sadece % 1-2 kadar değişiklik yapar. Oto-regülasyonu gerçekleştirmek için böbrekler makula densadaki sodyum klorür yoğunluğu değişiklikleriyle renal arteriyoller direncin kontrolü arasında bağlantı kuran bir feedback mekanizmaya sahiptir. Bu feedback, distal tubule oldukça sabit miktarda sodyum klorür gönderilmesini garantilemeye yardım eder.

Tübüloglomerüler feedback mekanizmanın afferent ve efferent arteriyoller feedback mekanizma olarak adlandırılan iki komponenti vardır. Jukstaglomerüler kompleks distal tübülün başlangıcındaki makuladensa hücreleri ile afferent ve efferent arteriyollerin duvarlarındaki jukstaglomerüler hücrelerden oluşur. Makula densa distal tubulde afferent ve efferent arteriyollerle temas eden bir grup özelleşmiş epitel hücresidir. Sodyum klorür yoğunluğundaki azalma makula densadan, iki etkiye sahip bir uyarıyı başlatır; afferent arteriöl direncini azaltarak glomerüler hidrostatik

basıncı artırır ve GFR'nin normale dönmesine yardım eder. Buna ek olarak reninin jukstaglomerüler hücrelerden serbestlenmesini arttırır^[9,10].

2.4 Böbrek Histolojisi

Böbrek dışta korteks ve içte medülla olmak üzere iki bölüme ayrılır. İnsanda renal medülla 10–18 adet medüller piramitten oluşur. Her bir medüller piramidin tabanından kortekse uzanan birbirine paralel tübül demetleri, medüller ışınlar çıkar. Her medüller ışın böbreğin fonksiyon gören birimleri olan birkaç nefron grubunun düz kısımları ile birlikte bir ya da daha çok sayıda toplayıcı kanaldan oluşur. Her medüller piramidin çevresini saran kortikal doku renal lob adını alır ve her medüller ışın konik şekilli renal lobülün merkezini oluşturur. Kortikal doku aynı zamanda Bertini sütunları olarak bilinen yapıları oluşturacak şekilde medüller piramitlerin arasında da bulunmaktadır^[11,12].

Nefronlar

Her bir böbrek 1–4 milyon nefron içerir. Her nefron; renal cisimcik, proksimal kıvrımlı tübül, Henle kulpunun ince ve kalın uzantıları ve distal kıvrımlı tübülden oluşur. Embriyonel kökeni nefrondan farklı olan toplayıcı tübüller ve kanallar nefronlarda üretilen idrarı toplayarak böbrek pelvisine iletirler. Her renal cisimciğin çapı yaklaşık 200 µm'dir ve kapiller bir yumak olan glomerülden oluşmuştur. Bu yumak Bowman kapsülü olarak adlandırılan iki tabakalı epitelyal bir kapsülle sarılmış durumdadır. Kapsülün iç tabakası olan visseral tabaka glomerülün kapillerini örter. Dış tabaka renal cisimciğin en dıştaki sınırını oluşturur ve Bowman kapsülünün pariyetal tabakası adını alır. Bowman kapsülünün iki tabakası arasında, kapiller duvarından ve viseral tabakadan süzülen sıvının toplandığı idrar boşluğu bulunur. Her renal cisimcikte, afferent arteriyollerin ve efferent arteriyollerin çıktığı damar kutbu, proksimal kıvrımlı tübüllerin başladığı noktada ise bir idrar kutbu bulunur. Afferent arteriyol renal cisimciğe girdikten sonra genellikle her biri kapillere dönüşen iki ile beş adet primer dala ayrılır. Bowman kapsülünün pariyetal tabakası ince bir retiküler lif tabakası ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelden oluşur. İdrar kutbundaki epitel, proksimal tübül için karakteristik olan tek katlı prizmatik epitele değişir. Viseral tabakadaki hücrelerin gövdelerinden birkaç

primer uzantı şekillenir ve bu hücrelere podosit denir. Her bir primer uzantı pedisel denen çok sayıda sekonder uzantı oluşturur. Podositlerin sitoplazması çok sayıda serbest ribozom, az sayıda kaba endoplazma retikulum sisternası, seyrek mitokondriler, belirgin bir golgi kompleksi içerir. Podositlerin sitoplazmalarında bunların kasılabilmesini sağlayan aktin mikroflament demetleri vardır. Glomerül kapillerindeki endotel hücreleriyle, bunların dış yüzeyini örten podositler arasında kalın bir bazal membran bulunur. Bu tabakanın kapillerdeki kanla idrar boşluğunu birbirinden ayıran bir filtrasyon engeli oluşturduğu düşünülmektedir. Bu bazal membran kapillerin ve podositin oluşturduğu bazal laminaların kaynaşmasından meydana gelmiştir. Elektron mikroskop yardımıyla ortada elektron yoğun bir tabaka (lamina densa) ve her iki yanda daha fazla elektron geçirgen bir tabaka (lamina rara) fark etmek mümkündür. Lamina raralar bunları hücrelere bağlamaya yarayabilecek olan fibronektin içerir. Lamina densa ise negatif yüklü bir proteoglikan olan heparan sülfat içeren bir matriks içinde tip 4 kollajen ve lamininin oluşturduğu ağ şeklinde bir yapıdır. Yani glomerül bazal laminası, lamina densenin fiziksel bir filtre olarak iş gördüğü, lamina raradaki anyonik bölgelerin ise elektriksel bir engel oluşturduğu seçici bir makromoleküler filtredir. Molekül ağırlığı albuminin molekül ağırlığından daha fazla olan negatif yüklü proteinler membrandan eser miktarda geçmektedir^[12,13].

Glomerül kapillerinin endotel hücreleri ince bir sitoplazmaya sahiptir. Organellerin çoğu, çekirdek çevresindedir. Glomerülün pencereci kapillerinin, pencereleri daha büyüktür ve kapiller aralığı birbirine tutturucu bir diyafram yoktur. Glomerül kapillerinde, endotel hücreleri ve podositlerin yanı sıra kapiller duvarına tutunan mezengiyal hücreler yer alır. Bu hücreler kendilerini saran ve kapiller duvarınadestek olan amorf matriksi sentezler. Bu hücrelerin aynı zamanda makrofaj gibi davranarak süzme işlemi sırasında bazal laminaya biriken partiküllü maddeleri temizlediği düşünülmektedir^[12,13].

Proksimal kıvrımlı tübüller

Renal cisimciğin idrar kutbunda, Bowman kapsülünün pariyetal yaprağının tek katlı yassı epiteli proksimal kıvrımlı tübüllerde prizmatik epitelyum şeklinde devam eder. Proksimal kıvrımlı tübüller tek katlı kübik ya da prizmatik epitel ile örtülüdür. Hücre

apeksinde fırçamsı kenarı oluşturan 1µm. uzunluğunda çok sayıda mikrovillus bulunur. Bu hücrelerin apikal sitoplazmalarında, mikrovillusların tabanı arasında çok sayıda kanalikül bulunur; bu kanaliküller proksimal tübül hücrelerinin makromolekülleri emme yeteneğini sağlar. Apikal membranın içe doğru yaptığı girintiler pinositik vezikülleri oluşturur. Bu veziküller içerisinde glomerül süzgecinden geçen makromoleküller bulunur. Bu veziküller lizozom ile kaynaşır ve oluşan monomerler dolaşıma geri döner. Bu hücrelerin bazal bölümlerinde yoğun membran katlanmaları ve komşu hücreler arasında lateral kenetlenmeler bulunmaktadır. Sodyum iyonlarının aktif olarak hücre dışına atılmasından sorumlu olan Na^+/K^+ ATPaz (sodyum pompası) bu bazolateral membranlarda bulunur. Mitokondriler hücrenin tabanında yoğunlaşmıştır ve hücrelerin uzun eksenine paralel dizilim göstermektedir. Bu şekilde dizilim, aktif iyon taşınmasında rol üstlenen hücrelere özgüdür^[11,12,14].

Henle kulpu

Henle kulpu, proksimal kıvrımlı tübüllere yapıca çok benzeyen bir kalın inen kol; bir ince inen kol; bir çıkan ince kol ve yapıca distal kıvrımlı tübüllerle aynı olan bir kalın çıkan koldan oluşan U şeklinde yapıdır.

Bütün nefronların yaklaşık yedide biri kortikomedüller sınırın yakınında bulunur, bu yüzden jukstamedüller nefronlar adını alırlar. Diğer nefronlara ise kortikal nefronlar adı verilir. Bütün nefronlar süzme, emilim ve salgılama işlemlerinde rol alırlar. Ancak jukstamedüller nefronların medüller interstisyumdaki hipertonic gradyanı sağlama konusunda özel bir önemi vardır. Jukstamedüller nefronların Henle kulpu çok uzundur^[12,14].

Distal kıvrımlı tübül

Henle kulpunun çıkan kalın kolu kortekse girdiğinde histolojik yapısını korur ancak büklümleşerek nefronun son kısmı olan distal kıvrımlı tübülleri oluşturur. Bu tübül tek katlı kübik epitelle döşelidir. Histolojik kesitlerde her ikisi de kortekste bulunan proksimal ve distal tübüller arasındaki ayırım belli özelliklere bakılarak yapılabilir. Proksimal tübüllerdeki hücreler distal tübülde bulunan hücrelerden daha büyüktür ve fırçamsı kenarları vardır. Distal tübüllerin lümenleri daha geniştir. Proksimal tübüllere özgü olan apikal kanalikül ve veziküller, distal tübül hücrelerinde görülmez. Distal kıvrımlı tübül hücrelerinin bazal membranlardaki yoğun

invajinasyonlar ve bunlarla ilişkili mitokondriler, bu hücrelerin iyon taşınmasında rol oynadıklarını göstermektedir. Distal kıvrımlı tübüller kortekste izledikleri yol boyunca kendi nefronlarına ait renal cisimciğin damar kutbuna değerkler. Bu değme noktasında afferent arteriyol ve distal tübül modifiye olur. Distal kıvrımlı tübül hücreleri bu jukstaglomerüler bölgede prizmatik hale dönüşürken çekirdekleride bir araya toplanır. Mikroskopik preparatlarda nükleusların yakın yerleşimi yüzünden daha koyu renkli görünen bu distal tübül segmenti makula densa olarak adlandırılır. Deneysel bulgular, makula densa hücrelerinin tübüler sıvıdaki klorür iyon içeriğine duyarlı olduğunu ve glomerüldeki afferent arteriyolde kasılmaya yol açan moleküler sinyaller oluşturduğunu düşündürmektedir. Bu mekanizma ile makula densa glomerüler filtrasyon hızını düzenleyebilir^[12,14].

Toplayıcı tübüller ve kanallar

Distal kıvrımlı tübüllerden geçen idrar, birbirlerine bağlanarak daha büyük, düz toplayıcı kanalları oluşturan toplayıcı tübüllere boşalır. Bu kanallar Bellini papiller kanalları adını alır ve piramitlerin uçlarına doğru giderek genişler. Küçük toplayıcı tübüller kübik epitelle döşelidir ve çapı ortalama 40 µm'dir Bu tübüller medüllanın derinliklerine doğru indikçe hücrelerin boyu uzar ve prizmatik olur. Piramidin ucuna yakın bölümlerde toplayıcı kanalın çapı 200 µm'e ulaşır. Hücrelerin bazal membranı hemen hemen hiç invajinasyon göstermez. Kortekste bulunan toplayıcı kanallar, her medüller ışına boşalan birkaç küçük toplayıcı tübül aracılığı ile birbirine bağlanır. Medüllada gerçekleştirilen idrar yoğunlaştırma işleminde en önemli rolü toplayıcı kanallar yapar^[12,14].

Jukstaglomerüler aparat

Renal cisimciğin hemen bitişiğinde afferent arteriyolün tunika medyasında modifiye düz kas hücreleri bulunmaktadır. Bu hücrelere jukstaglomerüler hücreler denilmektedir. Jukstaglomerüler hücrelerin salgısı kan basıncının sağlanmasında rol oynamaktadır. Distal kıvrımlı tübüllerde bulunan makula densa, jukstaglomerüler hücrelerin yer aldığı afferent arteriyol kısmına çok yakındır; arteriyolün bu bölümü, makula densa ile birlikte jukstaglomerüler aparatı oluşturur. Elektron mikroskopla incelenen jukstaglomerüler hücreler, başta bol miktarda kaba endoplazmik retikulumu, iyi gelişmiş golgi kompleksi ve çapları yaklaşık 10- 40 nm olan salgı granülleri olmak üzere protein salgılayan hücrelere özgü özellikler sergilerler.

Jukstaglomerüler hücreler, anjiotensinojen denen plazma proteini anjiotensin-1 olarak adlandırılan inaktif decapeptide dönüştürecek olan renin hormonunu üretirler^[12,14].

2.5 Böbreğin Fonksiyonları

1) Ekskretuar (İtrah) fonksiyonları: Böbrekler idrar oluşumu ile;

*Artık maddelerin eliminasyonu: Metabolik artık maddeler (üre, kreatinin, ürik asit gibi), ekzojen maddeler (ilaçlar, toksinler ve metabolitleri).

*Su dengesinin korunması: Total vücut suyunun korunması, plazma osmolalitesinin korunması.

*Elektrolit ve asit baz dengesinin korunması: Sodyum, klorür, kalsiyum, fosfat, potasyum, magnezyum ve asit-baz dengesinin korunması.

2) Metabolik Fonksiyonlar

*Hormonlar ve benzeri maddelerin sentezi: Renin, D vitamini, eritropoietin, prostoglandinler, kallikrein-kinin, büyüme faktörleri.

*Peptid yapılı hormonların yıkımı ve katabolizması: İnsülin, glukagon, parathormon, kalsitonin, prolaktin, büyüme hormonu, vazopressin, gastrointestinal hormonlar.

*Düşük molekül ağırlıklı proteinlerin katabolizması: Hafif zincirler, β -2 mikroglobulin.

*Diğer metabolik fonksiyonlar: Glukoneogenez, lipid metabolizması^[15].

2.6 İskemi-Reperfüzyon Hasarı

Bir organa gelen kan akımının böbrek transplantasyonu, şok, kardiovasküler cerrahi, parsiyel nefrektomi gibi çeşitli nedenlerle yetersiz hale gelmesine veya durmasına iskemi denir. İskemi sonucunda doku hipokside kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar. İskeminin uzun sürmesi sonucunda hücrelerin bütünlüğü kaybolur hatta hücrelölüm meydana gelir. Reperfüzyon ise dokuda kanlanmanın yeniden başlamasıdır. İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması durumunda özellikle dokuya gelip yerleşen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından salınan SOR' lar dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar. Bu olaya reperfüzyona bağlı doku hasarı denir^[16].

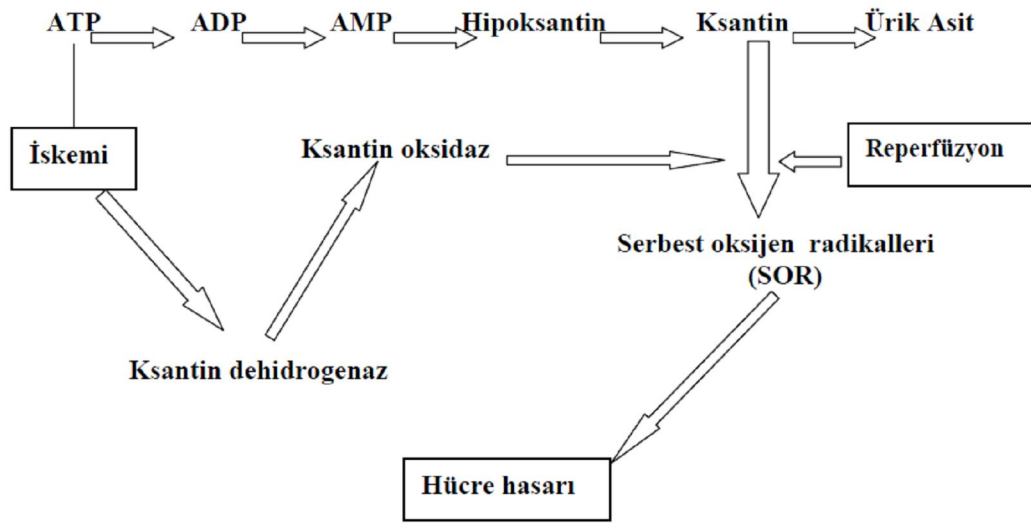
Hücreler oksidatif hasarı önleyen, yok eden ya da kısmen azaltan

mekanizmalara sahiptir. İskemi – reperfüzyon hasarında amaç, doku hasarına yol açan olayın etkisiyle tetiklenen biyokimyasal mekanizmaları, external yolla verilen maddelerle bir ya da birkaç basamakta engelleyerek organizmaya yardımcı olmaktır. Geçici bir süre iskemi ve hipoksi altında kalan organlarda hücre ve doku hasarı meydana gelir. İskeminin düzelmesiyle reperfüzyona bağlı olarak ilave hasar gelişir. İşte en az iki komponenti olan bu kompleks olaylar zinciri iskemi-reperfüzyon hasarı olarak bilinmektedir^[6,17,18,19]. İskemi-reperfüzyon hasarı (İRH), son yıllarda önemi giderek artan bir konu haline gelmiştir. Bunun en önemli nedeni transplantasyon alanındaki gelişmelerdir. Bilindiği gibi organ transplantasyonlarında alınan organ, soğuk solüsyonlarda (4° C) saklanarak nakledilmektedir. İmplantasyona kadar geçen sürede soğuk ve sıcak iskemi travması greftde hasara sebep olmaktadır, bu etkileri minime indirmek, prezervasyon zamanını uzatmak için yıllardır çalışmalar yapılmaktadır. Örneğin "UW"(organ prezervasyon solüsyonu) ile bugün karaciğer greftlerini 24 saat kadar saklamak mümkündür. Eskiden bu süre 8-10 saat kadardı. Kurallara uygun olarak saklanmış ve transplante edilmiş bir greft bazen fonksiyon görmeyebilir. Karaciğer transplantasyonlarında % 10 oranında görülebilen bu olayda İRH'nın önemli rolü olduğuna dair çok sayıda yayın vardır^[17,18,19]. Bu nedenle reperfüzyon hasarını tanımak ve önlem almak önem kazanmaktadır. Ayrıca, mezenter arter tromboembolisi, distal aorta embolisi, miyokard infarktüsü, serebro vasküler tromboemboli, hipovolemik şok, sepsis gibi çok sayıda klinik antitede de İRH gelişmektedir. Son yıllarda gelişen yaşam destek sistemleri ile hastaların hayatta kalma süresi uzatılmaktadır. İRH'nın önlenmesi veya tedavisinin mümkün olması ile yukarıda sayılan klinik antitelerde tedavi şansı artacaktır. İRH'da bugün bilinmeyenler bilinenlerden daha fazladır. Her yeni küçük buluş da birçok yeni sorunun sorulmasına sebep olmaktadır. Her şeye rağmen bazı bilgiler klinik kullanımdadır.

2.7 İskemi-Reperfüzyon Hasarının Patofizyolojisi

Organizmada çeşitli organların iskemiye karşı verdikleri cevap temelde aynıdır. Ancak organlara özgü bazı farklılıklar vardır. Her organ metabolizma hızına bağlı olarak iskemiye süre bakımından daha duyarlı ya da daha dirençlidir. Doku iskemisi hücrede respirasyonu ve oksidatif fosforilasyonu durdurur. Adenosin trifosfat (ATP)

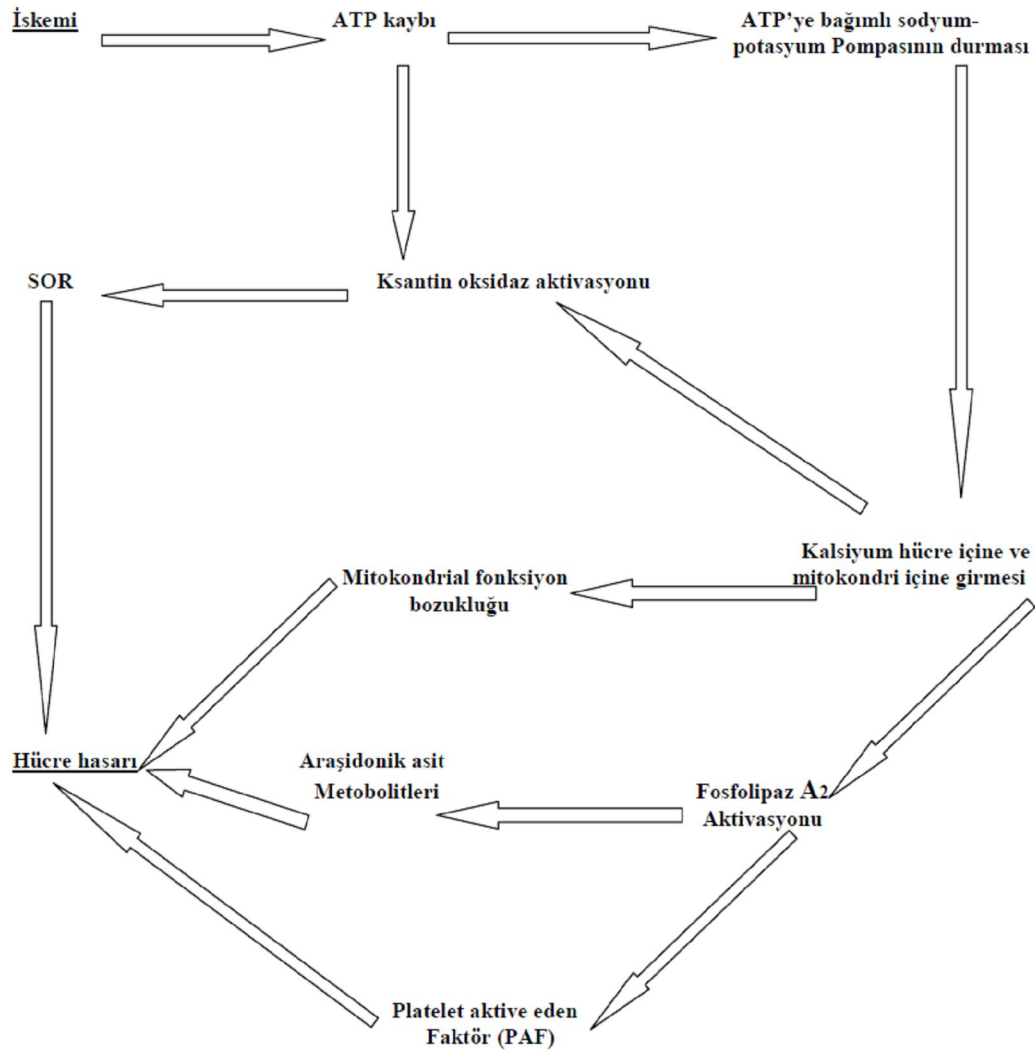
başta olmak üzere yüksek enerjili fosfatlar yıkılmağa başlar. Süperoksit anyonu ve diğer serbest oksijen radikalleri (SOR) hücre hasarına sebep olmaktadır. SOR hidrolitik tabiatlı lizozomal enzimleri açığa çıkarmakta ve hücre membranında lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır (Şekil 2.4 ve 2.5). Tablo 2.1’de SOR açığa çıkaran kaynaklar görülmektedir^[20].



Şekil 2.4: İskemi-reperfüzyon hasarı oluşma mekanizmaları

Tablo 2.1: Serbest Oksijen Radikal Kaynakları

- Kupffer hücreleri
- Lökositler, trombositler, makrofajlar
- Katekolamin oksidasyonu
- Ksantin ve ksantin oksidaz reaksiyonu
- Sitokrom oksidaz



Şekil 2.5: İskemi reperfüzyon hasarı oluşma mekanizmaları

Özellikle lökosit ve trombositler bu olaylar zincirinde, kısır döngünün meydana gelmesinde önemli rol oynarlar. Araşidonik asit metabolitlerinin bir kısmı hücre hasarına sebep olurken bir kısmı sitoprotektif rol oynar. Ancak net etki hücre hasarı yönündedir.

İRH'nın tek sorumlusu SOR' lar değildir. Şekil 2.5'te görüldüğü gibi iskemi ile birlikte kalsiyum iyonu hem bizzat hem de diğer mekanizmaları uyarak zararlı olmaktadır. Araşidonik asit metabolitlerinin İRH'da önemli rolleri vardır. Görüldüğü gibi tüm metabolitler zararlı etki göstermemektedir. Hatta prostasiklin I₂ ve

analogları İRH profilaksisinde, tedavisinde kullanılmaktadır. Prostaglandin E2 hakkındaki düşünceler çelişkilidir. Tromboksan A2 (Tx A2) ise şiddetli hücre hasarı yapan bir metabolittir. Hücre membranında mevcut bulunan fosfolipidler aktive edildiğinde başlayan kimyasal zincir tüm metabolitleri ortaya çıkarırsa da Tx A2 etkisi ağır basar. Dolayısıyla araşidonik asit şelalesinin net sonucu doku hasarı yönündedir. Platelet aktive eden faktör (PAF) de bağımsız bir mekanizma ile hücre hasarına sebep olur. PAF, Tx A2 gibi trombosit agregasyonu, nötrofil aktivasyonu, SOR salınımı, vasküler endotel hasarı ve vazospasm yapar. Sayılan bütün mekanizmalar aslında iç içe ve birbirini bir kısır döngü oluşturacak şekilde uyaran mekanizmalardır. Bu mekanizmaların merkezinde lökositler, trombositler, makrofajlar bulunmaktadır. Bu hücreler ya sayılan mediyatörlerin etkisi ile aktifleşmekte ve inflamatuvar cevap ile birlikte doku hasarına sebep olmakta veya bizzat başka mediyatörler salgılayarak doku hasarını ağırlaştırmaktadır. Tablo 2.2’de İRH’da rol alan mediyatörler görülmektedir^[20].

Tablo 2.2: İRH’da Rol Alan Mediatörler

Serbest oksijen radikalleri (SOR)
Platelet aktive eden faktör (PAF)
Prostaglandin E2 (PG E2)
Lökotrienler
Tromboksan A2 (Tx A2)

İskeminin süresine ve şiddetine bağlı olarak iki türlü hücresel zedelenme ortaya çıkar:

Geri dönüşümlü zedelenme: İskeminin ilk zarar verdiği yer hücrenin aerobik solunumudur. Oluşan hipoksi mitokondrideki oksidatif fosforilasyonu engeller. Adenozin trifosfat (ATP) oluşumu yavaşlar ve durur. ATP kaybı hücre içinde çeşitli sistemleri yaygın olarak etkiler. Özellikle hücre zarının quabain duyarlı ATP aktivitesinin azalması zarda aktif sodyum pompasının yetersizliğine yol açarak

hücre içi sodyum birikimi ve hücreden potasyumun dışarı atılımına yol açar. Solid materyalin birikimine izoozmotik su birikimi eşlik ederek akut hücrel şişme oluşur^[16].

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

Sonraki safhada granüllü endoplazmik retikulumlardan (GER) ribozomlar ayrılır ve polizomları monozomlara parçalanır. Eğer hipoksi devam ederse zar geçirgenliği artar ve mitokondri fonksiyonları azalır. Hücre yüzeyinde tomurcuklanmalar oluşur. Sitoplazmada ya da dışında organel zarları gibi plazmadan köken alan, konsantrik laminalı myelin figürler şekillenir. Bu sırada mitokondriler normal, şişmiş ya da yoğunlaşmıştır, GER genişlemiş ve tüm hücre belirgin olarak şişmiştir. Tüm bu bozukluklar oksijen verilince geri dönüşlüdür. Buna rağmen iskemi sürerse, geri dönüşsüz zedelenme oluşur^[18].

Geri dönüşümsüz zedelenme: Geri dönüşümsüz zedelenme yapısal olarak mitokondri ve kristalarında aşırı vakuolizasyon, plazma zarında aşırı zedelenme, lizozomlarda şişme; özellikle iskemik alan yeniden beslenirse hücre içi yoğun kalsiyum tutulumu ile birliktedir.

Amorf kalsiyumdan zengin yapılar mitokondri matriksinde gelişir. Mitokondride geri dönüşsüz zedelenmelerin erken bulguları 30-40 dakika sonra görülebilir. Proteinler, temel koenzimler, ribonükleik asitler (RNA) aşırı geçirgen zarlardan sürekli kaybedilir. Hücreler, hücre içi yüksek enerjili fosfatın yapımında kullanılacak ATP'nin yeniden oluşumu için yaşamsal önemi olan metabolitlerini de kaybederler. PH'nın düşmesi lizozom zarlarının zedelenmesiyle enzimlerinin

sitoplazmaya geçerek, asit hidrolazların aktifleşmesiyle sitoplazmik ve çekirdek yapıların sindirimine neden olur. Hücre ölümünü izleyerek, hücre organelleri devamlı parçalanır ve hücrel enzimler hücre dışı mesafeye sızarlar. Sonuçta ölü hücreler myelin oluşumlar ve fosfolipidden oluşan büyük kitlelere dönüşürler. Bunlar daha sonra diğer hücreler tarafından fagosite edilirler veya yağ asitlerine parçalanırlar. Bu yağ asitlerinin kalsifikasyonu ile kalsiyum sabunları oluşur^[19].

Hücre içine kalsiyum girişiyle kalsiyumdaki net artış hücrenin iyonik dengesini bozar. Bundan sonra kalsiyum mitokondri içine sızmaya başlar. Mitokondrinin kalsiyumla yüklenmesi sonucu hücre membranındaki proteazlar ve fosfolipazlar aktive olur. Fosfolipazların aktivasyonu, serbest yağ asidi ve lizofosfolipidlerin salınımına bağlı olarak hücre membranında toksik etkiler oluşur.

Bu etkilerin yanında araşidonik asit metabolizması başlatılarak reperfüzyon sırasında sitotoksik ürünler üretilir. Proteazların aktivasyonu, hücre iskeletinin parçalanmasına neden olur. Enzim sisteminde değişimler meydana gelirken yine reperfüzyon esnasında SOR'un oluşumu gerçekleşir ve hatta artar. İskemi sırasında oluşan hasarların, reperfüzyon hasarları için başlangıç teşkil ettiği saptanmıştır^[21].

Reperfüzyon hasarının bilinen en az üç bileşeni mevcuttur; bunlar mikrovasküler hasar, hücre nekrozu ve hemorajidir. İskemiye maruz kalan her organda reperfüzyon hasarı oluşur. İskem sırasında biyokimyasal olayların oluşumuyla kendini gösterir ve sonuçta süperoksit anyonu (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi SOR'ların yanında kalsiyum artar ve sarkolemmal fosfolipidlerin kaybı meydana gelir^[22].

Reperfüzyon hasarında en önemli rolü polimorfonükleer lökositler oynar. İskemik dokuya gelen ve yerleşen polimorfonükleer hücreler birçok yoldan etki ederek iskemik dokuyu yok ederler. Polimorfonükleer hücreler, endotel lökosit adezyon molekülü (ELAM-1), intersellüler adezyon molekülü (ICAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1), L-selektin gibi adezyon moleküllerine tutunarak iskemik dokuya yerleşirler^[23].

Bu hücreler, iskemik dokuyu hem oksidatif (oksijen radikalleri ile) hem de

nonoksidatif yolla tahrip ederler. Nötrofil granülleri, vasküler yaralanmaya neden olabilen birçok hidrolitik enzim ve antimikrobiyal polipeptid içerirler^[24].

İskemik dokudaki polimorfonükleer hücre bağımlı yıkımda ayrıca fosfolipaz ürünleri tromboksan-A₂, prostoglandin E₂, lökotrien C₄, D₄, B₄ ve platelet agreg edici faktör (PAF) üretilir. Bunlar da çeşitli yollardan doku hasarını artırır^[24,25].

2.8 Hücre İçi Kalsiyum Artışı

İRH'nın tek sorumlusu SOR leri değildir. İskemi ile birlikte hücre içi kalsiyum iyonu hem bizzat hem de diğer mekanizmaları uyatarak zararlı olmaktadır^[26,27,28].

İskemi sırasında ilk olarak membran potansiyeli azalır ve hücre membran permeabilitesi artar. Bu durumda kalsiyum hücre içine girer^[29]. Kalsiyum voltaj ya da reseptör bağımlı kanallardan sodyum veya hidrojen iyonu ile değişerek geçer veya hasarlı hücre membranından direkt olarak geçer^[30,31,32].

Normalde kalsiyumun %10'u hücre membranına bağlı, %60-70'i intrasellüler organellerde, %10 – 20'si sitozolde serbest olarak bulunur^[33]. Biyolojik olarak aktif form serbest kalsiyumdur. İskemi sonucunda kalsiyum hücre içinde yeniden dağılır ve hücrede kalsiyum birikimi gözlenir. Hücre içi kalsiyumun artması sonucu mitokondriyel solunum fonksiyonu bozulur ve ATP azalır. Hücre içi yüksek fosfatlı enerji kaynaklarının azalması ile aktif transport mekanizmalarını hasarlar ve sonuçta hücre içi kalsiyum daha da artar ve artmış permeabilite sonucu membran fosfolipazları aktive olur^[19]. Kalmodulin kalsiyumun regülatör proteinidir ve fosfolipaz aktivitesini de kontrol eder. Kalmodulin metabolizması iskemi sırasında değişebilir^[34]. Kalsiyum sitozolik serbest yağ asitlerini artırır ve serbest yağ asitleri hücre membranında deterjan etkisi gösterir. Ayrıca kalsiyum aktin ve mikrotübül destrüksiyonu sonucu organellerinin hücre sel yapısını bozar^[35,36]. Oluşan serbest radikaller ve kalsiyum ile birlikte hücre lipidleri hücre membranını yıkar. Ayrıca hücre içi enzimlerinin fonksiyonlarını bozar^[37]. NADPH 'nin NADP' ye oksidasyonu sırasında serbest oksijen radikalleri oluşur. Bunlar hidrojen peroksit (H₂O₂) , hidroksil (OH) ve diğerleridir. Normal şartlarda oluşan serbest radikaller de hücreye zararlıdır fakat glutatyon peroksidaz enzimi ile etkileri önlenmektedir.

Ancak limitli oksijen varlığında serbest oksijen radikallerinin yapımı belirgin artar. Serbest radikaller lipid peroksidasyonuna, Ca^{2+} ise mitokondrial disfonksiyona neden olur^[38].

2.9 Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest oksijen radikalleri; dış yörüngesinde tek sayıda serbest elektron bulunan, kimyasal olarak reaktif atom veya moleküllerdir. Organizmada 'süperoksit' ve 'hidroksil' gibi serbest radikallerin yanında, 'hidrojen peroksit' ve 'hipokloröz asit' gibi radikal olmayan ancak serbest radikal oluşturma potansiyeli bulunan zararlı oksijen türevleri de oluşabilmektedir^[39,40].

SOR, aerobik canlılarda belirli oranlarda oluşmaktadır. Fagositik hücrelerin yabancı mikroorganizmalara karşı savunma mekanizmalarında önemli rol oynarlar. Serbest radikaller, paylaşılmamış elektronlarından dolayı, protein, karbonhidrat ve nükleik asitlerle reaksiyona girerek bu moleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar^[41].

Serbest oksijen radikallerinin, hücre bileşenleri ile oluşturdukları reaksiyonlar şunlardır:

Proteinler: Serbest radikaller, aminoasitler ile reaksiyona girerek protein yapısındaki enzimlerin spesifik aktivitelerini ortadan kaldırırlar. Protein bağlanma ve enzim aktivitelerinde farklılaşma ortaya çıkan hücrede fonksiyonel bozukluklar oluşturur^[42].

Karbonhidratlar: Serbest radikaller, polisakkarit polimerizasyonunda artışa neden olurlar. Glukoz gibi monosakkaritlerin oto-oksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, diğer peroksitler ve oksi-aldehitler oluşur. Böylece moleküler yapı bozularak işlevini kaybeder^[43].

Nükleik asitler: Serbest radikaller, DNA zincirinde kırılmalar meydana getirirler ve DNA hasarı sonrası aktive olan 'polimeraz' enzimi ile reaksiyona girerek DNA'nın onarımına engel olurlar^[41].

Lipidler: SOR, hücre membranlarındaki kolesterol ve doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu başlatırlar^[44,45].

İskemi-reperfüzyon hasarı sonucunda; serbest oksijen radikalleri aracılığı ile oluşan lipid peroksidasyonunun hücre membranı için önemli yıkıcı etkileri olduğuna inanılmaktadır^[44,45].

Poliansatüre yağ asitleri membran bütünlüğünü bozmaktadır. Lipid peroksidasyonu; hücre membranının akışkanlığının ve geçirgenliğinin değişimine neden olur. Sonuçta membran proteinleri de degrade olur ve tüm bu süreç reperfüzyon hasarı sonucunda oluşan hücre ölümüne yol açan önemli etkenlerden sayılmaktadır. Lipid peroksidasyonunun doku ve plazmadaki son ürünü malondialdehittir (MDA). Yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda lipid peroksidasyonunun belirteci olarak yaygın olarak kullanılmaktadır.

Süperoksit radikalının ana kaynağı, postiskemik endotelyumdur. Normal koşullar altında süperoksidin zararlı etkileri süperoksit dismutaz (SOD) tarafından engellenir. SOD; süperoksidi hidrojen perokside dönüştüren bir enzimdir. Reperfüzyon esnasında bu doğal savunma mekanizması eksiktir. Böylece hidrojen peroksit, aminoasitler, membran transport proteinleri, sitokrom enzimleri ve nükleik asitlere oldukça zararlı olan hidroksil radikaline dönüşür^[46].

Günümüzde iskemi-reperfüzyon hasarının azaltılmasına yönelik çalışmaların çoğu, bu ‘serbest oksijen radikallerinin temizlenmesi’ üzerine yoğunlaşmaktadır ancak halen pratikte rutin kullanıma geçecek etkin bir madde bulunmuş değildir^[47].

2.10 Nitrik Oksit

Endotel, nitrik oksit (NO) için en önemli kaynaktır. NO; iskemi reperfüzyon hasarına karşı oldukça iyi bilinen mediatör ve koruyucudur^[48]. Nitrik oksit (NO), L- Arginin’in guanidyum grubundan NO sentetaz (NOS) enzimi aracılığı ile sentezlenen diatomik serbest radikaldır^[49].

NO; vasküler tonusun fizyolojik regülasyonu, platelet agregasyonun inhibisyonu, endotele lökosit adezyonunun engellenmesi, oksijen derive serbest

radikallerin temizlenmesi, normal vasküler permeabilitenin idamesi, düz kas proliferasyonunun engellenmesi, immün defansın güçlendirilmesi ve endotel hücrelerinin rejenerasyonu gibi birçok yaşamsal olayda etken bir maddedir^[50,51]. Etkilenen endotelyumda NO salınımında ciddi bir azalma karşılaşılr ise oluşacak iskemi-reperfüzyon hasarı fazlalaşacaktır ancak halen NO sentezinin engellenmesinin mekanizması açık değildir.

2.11 İskemik Ön Koşullanma

İskemik ön koşullanma hücre veya dokuların iskemi ve reperfüzyona kısa süreli maruz kalması ve sonrasında daha uzun süreli iskemi ile oluşan doku hasarında belirgin olarak azalma oluşturan bir fenomendir^[52]. İskemik ön koşullanma ilk kez 1986 yılında Murry ve arkadaşları tarafından köpek myokardında gösterilmiştir. Myokardiyal iskemik ön koşullanmanın gösterilmesinden sonra yapılan çalışmalar bu fenomenin beyin, spinal kord, iskelet kası ve karaciğer gibi organlarda da oluşabileceğini bildirmektedir. İskemik ön koşullanmanın akciğerde de koruyucu etki yapabileceğini gösteren çalışmalar vardır^[53,54].

Bu planlanmış kısa iskemi periyodları ve reperfüzyon epizodları sayesinde doku veya organ maruz kalınacak gerçek iskemiye daha dirençli hale getirilir. İskemik ön koşullamayı indükleyebilmek için gereken iskemik tekrarlar türe ve organ sistemine özgüllük göstermektedir. Sıçan, tavşan, köpek ve insan kalbi için literatür de iskemik ön koşullanma oluşturan farklı sayıda iskemik tekrar protokolleri bulunmaktadır. İskemik ön koşullanmanın erken döneminde oluşan koruyucu etkinin süresi de türe özgü olarak değişiklik göstermektedir. Kalpteki bu koruyucu etki tavşanda 30 dakikalık reperfüzyondan sonra sonlanırken, bu sürenin sıçanda bir saat, köpekte ise iki saat olduğu bildirilmiştir. İskemik ön koşullanmanın geç dönemdeki koruyucu etkisinin ortaya çıkması için gereken zamanın da türler arasında farklılık gösterdiği düşünülmektedir. Genel olarak erken dönemdeki koruma, ön koşullanmanın indüklenmesinden itibaren 3 saatlik bir koruma dönemini takiben 12-24 saatlik korumasız bir dönem şeklinde tanımlanırken geç korumanın ise, ön koşullanmanın indüklenmesinden 12-24 saat sonra başlayıp 72 saat sonra sona erdiği bildirilmektedir^[54].

2.12 İskemi-Reperfüzyon Hasarının Önlenmesi ve Tedavisi

İskemi ile karşılaşma süresi ne kadar kısa olursa İRH'nın şiddeti de o kadar az olmaktadır. Hayvan deneylerinde böbreğin güvenli bir şekilde sıcak iskemiyeye maruz kalma süresi 20- 90 dakika arasında bulunmuştur^[55,56,57]. Ancak 40 dakikanın üzerinde dönüşümsüz hasar riski artmakta ve barsaklarda stazın varlığı İRH'nı artırmaktadır^[57,58,59].

Süre kadar önemli faktörlerden biri de iskemi sırasında metabolizma hızının düşürülmesidir. Böbrek transplantasyonunda greftin 4° C de saklanması metabolizma hızının soğukta yavaşlaması prensibine dayanmaktadır. Ancak soğukta bile metabolizma tamamen durmadığı için iskemik hasar zamanla paralel olarak az ya da çok gelişmektedir. Greftin implantasyonundan sonra reperfüzyon başladığında da İRH her grefte değişik derecelerde gelişmektedir. Ayrıca oksihemoglobinin saturasyonunun % 90 ın üstünde olması reperfüzyon hasarını şiddetlendirebilir.

Yukarıda anlatılan fizyopatolojik mekanizmaları ve mediatörleri bloke eden çok sayıda kimyasal madde geliştirilmiştir. Ancak bugüne kadar pek azı klinik kullanıma girmiştir. Bunda İRH'nın çok karmaşık ve çok parametrelili bir kompleks olmasının rolü vardır. Örneğin Allopurinol'un deneysel olarak İRH'nı önlediğini bildiren çalışmalar olduğu gibi faydasını gösteremeyen çalışmalar da vardır^[55].

Çalışmalarda kullanılan hayvanın cinsi, kullanılan iskemi modeli, kimyasal maddenin iskemi başlamadan ne kadar zaman önce verildiği, dozu ve İRH'nın tesbit edilme yöntemi gibi birçok faktör araştırma sonuçlarını değiştirebilmektedir.

Sitoprotektif etki gösterip, İRH'nı farklı mekanizmalar aracılığı ile önleyebileceği düşünülen kimyasal ajanlar Tablo 2.3'de özetlenmiştir^[20].

Tablo 2.3: Sitoprotektif Etki Gösteren Kimyasal Ajanlar

1. Kalsiyum antagonistleri:
 - Verapamil, nikardipine
 - Diltiazem
2. Serbest oksijen radikal temizleyicileri (SOR):
 - Allopurinol (Ksantin oksidaz inhibitörü)
 - SOD (Superoxide anion dismutase)
 - Coenzyme Q10 (lipid peroksidasyonunu önler)
 - Katalaz (Hidrojen peroksit detoksifikasyonu)
 - ATP + Magneziyum klorür
3. Prostaglandinmimetikler:
 - PG I₂
 - PG E_i
 - PG I₂+ İbuprofen (Tx A₂ inhibitörü)
4. Platelet aktive eden faktör antagonistleri:
 - SRI 63-441
5. Lizozimal membran stabilizasyonu yapan ajanlar:
 - ibuprofen
 - Metilprednizolon
 - Klorpromazin
 - Fenoksibenzamin
 - PGE_i
 - Siklosporin

Kalsiyum antagonistlerinin etki mekanizmasının vazodilatasyon yapmak ve kalsiyum iyonunun mitokondri içine girmesini önlemek olduğu sanılmaktadır. SOR "temizleyicileri" ya SOR'nin oluşmasını engellemekte ya da etkilerini ortadan kaldırmaktadır.

Prostaglandinlerin rolleri daha da karışıktır. Vazodilatasyon, canlı mitokondri fonksiyonunu korumak, trombosit agregasyonunu önlemek, siklik AMP ın etkisini

arttırmak, lizozomal enzim stabilizasyonu yapmak gibi etkileri vardır. Ancak daha önce de belirtildiği gibi ortamda bulunan Tx A2 nin zıt etkileri nedeniyle PG I2 nin yararı görülememektedir. Bu nedenle Tx A2nin İbuprofen ile inhibe edilmesi gereklidir. Konu ile ilgili çok sayıda yayın olmamakla birlikte PAF antagonizması gelecekte ümit vaad etmektedir. Sonuç olarak İRH da sorumlu olan mekanizmaların çok kompleks olması bu önemli sorunun çözülmesini geciktirmektedir. Birçok klinik antitenin tedavisinin ve transplantasyon konusundaki ilerlemelerin İRH'nın çözümüne bağlı olması bu konuda yoğun araştırmalar yapılmasına neden olmaktadır. Bu da yakın çözüm için bir umut kaynağıdır.

2.13 Kalsiyum Dobesilat

Kalsiyum Dobesilat (kalsiyum 2,5-dihidroksibenzen sulfonat, CLS 2210) Avrupa, Latin Amerika, Asya ve Orta Doğu'da 60'tan fazla ülkede kronik venöz yetmezlik, diyabetik retinopati ve hemoroidal atakların semptomatik tedavisi olmak üzere 3 major endikasyon için kullanılan bir ilaçtır^[60].

İlaç formülasyonlarını, klinik önem ve özelliklerini içeren kitaplarda (örneğin Le Dictionnaire Vidal –Fransa) venotonik ve vaskülo protektor ilaçlar grubunda sınıflandırılmaktadır^[61,62]. Ülkemizde Doxium® (500mg Kapsül, Abdi İbrahim İlaç Sanayi) ticari adıyla satılmaktadır.

Farmakolojik Etkileri:

a) Kapiller üzerine etkisi ve antioksidan kapasiteleri: Deneysel klinik çalışmalarda kalsiyum dobesilatın özellikle küçük damarlarda olmak üzere vasküler protektif özellikleri olduğu gözlenmiştir^[63,64]. Kalsiyum dobesilat kapiller damarlar üzerine selektif etki göstererek; histamin, serotonin, bradikinin, hyaluronidaz ve prostaglandinler gibi vazodilatör maddelerle indüklenmiş olan kapiller permeabiliteyi azaltır ve kapiller damarların direncini artırır. Reaktif oksijen türleri üzerinde temizleyici ve ROS oluşumunu azaltıcı özellikleri olup antioksidan kapasiteleri mevcuttur^[65,66]. Ayrıca makro ve mikrovasküler endotelial hücrelerde NOS aktivitesini artırır ve NO sentez ve salınımını etkileyerek kapiller endotelial hücre duvarı geçirgenliğini azaltır^[67]. Bazal membranın bozulmuş kollajen biosentezini düzenler ve kapiller damarlara bu etkileri sonucu çeşitli nedenlerle oluşan kapiller

alan harabiyetini önler^[66,67,68]. Ayrıca klinik çalışmalarla vasküler intima üzerinede koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir^[69].

b) Mikrosirkülasyondaki etkileri: Kalsiyum dobesilat prostaglandin F1-alfa, prostaglandin F2-alfa ve tromboksan B2 sentezini kısmi ya da doza bağımlı inhibe eder. Böylece kan seviyesinde trombosit agregasyonu ve trombogenezi inhibe eder, kan hiperviskozitesini düşürür, eritrositlerin agregasyonunu ve rijiditesini azaltır. Bu etkileri sonucu kan stazı, vasküler tıkanıklık ve iskemiye önler^[70,71,72].

Kan ve plazma viskozitesindeki azalmaya ilaveten bazı biyolojik parametrelerde de (fibrinojen, alfa1 ve alfa 2 globulinler) azalmaya neden olduğu gösterilmiştir^[73].

Bazı klinik çalışmalarda kalsiyum dobesilatın PMNL'leri apoptozisden koruyucu özellikleri olduğu, PMNL ve eritrositlerde antioksidan türlerinde artışa sebep olduğu gözlenmiştir^[66,74].

Çok iyi bilinmesede etkin bir antiagregandır ve bu özelliği ile neointimal hiperplazinin belirgin ölçüde azaldığı yönünde çalışmalar mevcuttur^[75].

Kalsiyum dobesilatın plateletlerdeki serotonin salınımını antagonize ettiği, damar duvarında platelet birikintilerini yok ettiği ve böylece trombüs formasyonunu inhibe ettiği klinik çalışmalarla kanıtlanmıştır^[76,77].

Farklı dozlarda yapılan çalışmalarda kalsiyum dobesilatın mikrosirkülasyondaki platelet agregasyonunu ve trombüs formasyonunu inhibe ederek antitrombotik etkilerinin olduğunu gösterilmiştir^[78].

c) Lenfatik sistem üzerine etkisi: Deneysel çalışmalarda lenfagog etkisi sonucu lenfödem azalttığı, intralenfatik basıncı düşürüp sıvı girişini artırdığı ve torasik seviyede lenfatik akımı azalttığı görülmüştür^[79,80,81,82,83].

Lenfagog etkisi ile koroner arter oklüzyonu sonrasında myokardial infarktın boyutunu azalttığı ve akut myokard infarktüs biyomarkırlarını azalttığı gözlenmiştir^[83,84,85,86]. Ayrıca kalsiyum dobesilatın uygulandığı deneklerde kardiyak lenfatik damarların sayısında da bir artış olduğu görülmüştür^[85].

d) Kollajen Değişikliğine Etkisi:

Traskapiller sızıntıdan ve kapiller bazal membranın kalınlaşmasından sorumlu olan kollajenin non-çapraz bağlarını azaltır ve kapiller bazal membranın kollajen çapraz bağlarını destekler^[87].

Farmakokinetik Özellikleri:

Ağız yoluyla alındığında, mide-barsak kanalından absorbe olur. Alınan dozun %50'si böbrek yoluyla, %50'si ise feçesle ilk 24 saat içinde atılır. Plazma proteinlerine bağlanma oranı %20-25'dir. Molekölün %90'ı değişmeden atılır. 500 mg kalsiyum dobesilat oral alımını takiben ilacın maksimum plazma konsantrasyonu (C max) düzeyleri 8 µg/ml ve gastrointestinal sistemden hızla emilim sonrası plazma zirve düzeyine (t max) 6 saatte ulaşır ve ilaç yarılanma ömrü (t ½) 5 saattir. Serebrospinal sıvıya geçişi yoktur ve plasentadan geçmez. Emilimi sonrasında anne sütündeki konsantrasyonu çok düşüktür^[60,88].

Yan Etkileri:

Güvenlik aralığı iyi olan bir ilaç olmasına rağmen nadir olsa da agranülositoz gibi ciddi yan etkiler rapor edilmiştir^[89].

Rapor edilen diğer nadir yan etkiler ise; 39-40°C'yi bulan ateş (eritematoz raş, artralji, fasiyal ödem, generalize ödem ve bukkal ülserasyonunda eşlik edebileceği), anafilaksi, bulantı, kusma, diyare, karın ağrısı, baş ağrısı, vertigo, asteni, öfori, uykuya meyil, myalji, ürtiker, eritemotöz püstülozis, görme problemleri, taşikardi, aritmi, anjina pectoris, hematüri, akut karaciğer hasarı ve kilo artışıdır^[90,91,92].

Kalsiyum dobesilatın, tüm bu özellikleri göz önüne alındığında ve literatürdeki çalışmalar da dikkate alındığında (örneğin; iskelet kası iskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu etkisi, iskemiye uğramış fleblerin kurtarılmasındaki rolü, diyabetik erkeklerde erektil disfonksiyonda kalsiyum dobesilatın etkisi, diyabetik retinopatide kalsiyum dobesilatın etkisi, açık kardiyak cerrahi boyunca kalsiyum dobesilatın koruyucu etkisi, miyokard enfarktüsüne ve sağkalıma kalsiyum dobesilatın etkisi) renal kan akımını azaltan cerrahi girişimler sonrası böbrekte iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olumlu etkilerin olabileceği fikri akla gelmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

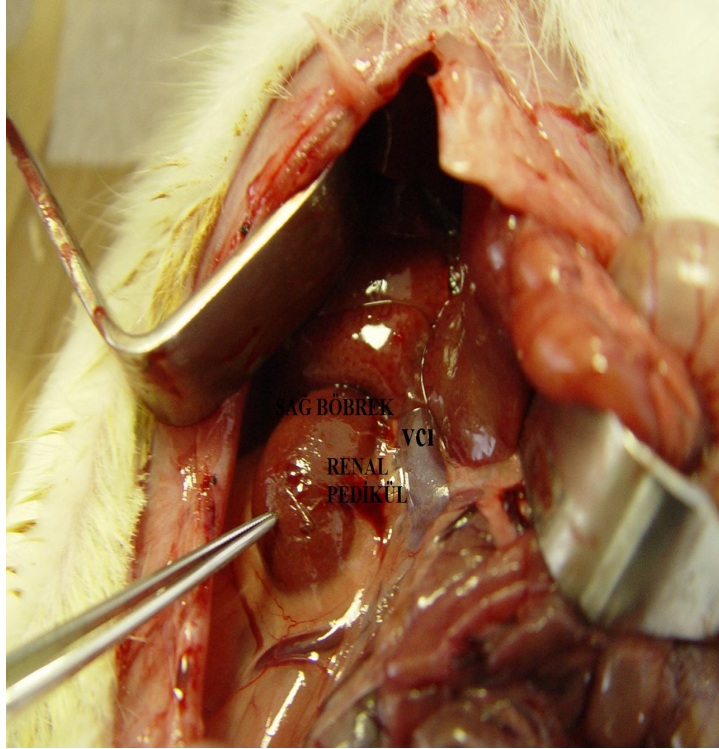
Bu deneysel çalışma, A.İ.B.Ü. Tıp Fakültesi Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu'nun 2009/35 sayılı yazılı onayı alınarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda toplam 24 adet Wistar Albino cinsi, ağırlıkları 300-360 gr (ortalama 330 gr) arasında değişen erişkin erkek rat kullanıldı. Tüm deney hayvanları 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda normal oda sıcaklığında (22°C) ve ayrı kafeslerde tutularak takip edildi. Tüm denekler standart rat yemi ile beslendi, şebeke suyu kullanıldı ve düzenli olarak kafes bakımları yapıldı.

Deney esnasında kullanılacak anestezi, intramusküler yoldan verilen ketamin HCl (40 mg/kg; 50 mg/cc; Ketalar®; Parke-Davis) ve % 2 Xylazin HCl (10 mg/kg; 23.32 mg/cc; Rompun®; Bayer) kombinasyonu ile sağlandı. Relaparotomi yapılacak deneklere ilk laparotomi sonrası Xylazin HCl'nin analjezik etkisine ilave olarak postoperatif parasetamol uygulandı. (Parasetamol rodentlerde postoperatif analjezi için en çok kullanılan ajanlardan olup; içme suyuna 1-2 mg/ml olacak şekilde konulur. Dozu 100-300 mg/kg olup, yaklaşık 4 saat etkilidir)^[93]. Deney protokolü süresince uygulanacak girişimler için aynı dozlar ile anestezi idamesi sağlandı. Genel anestezi altındaki ratlar operasyon masasına alınarak flaster yardımı ile ayaklarından masaya sabitlendi Cerrahi işlemin gerçekleştirileceği alan traş bıçağı ile traş edildi. Operasyon sahası önce cerrahi sabun sonra povidone-iodine ile temizlendi(Şekil 3.1). Batın orta hattan cerrahi aletlerle uygun teknikle açıldı (Şekil 3.2). Sağ taraftaki bağırsaklar mediale itilince sağ böbrek, böbrek pedikülü ve vena kava görünür hale geldi.



Şekil 3.1: Cerrahi öncesi hazırlık



Şekil 3.2: Laparotomi sonrası barsağın mediale alınması ile sağ böbrek, böbrek pedikülü ve vena kavanın görünür hale gelmesi.

Deney Protokolü

Bu çalışmada ratlar her birinde 8 denek olacak şekilde üç ayrı gruba ayrıldı. Deney hayvanları preoperatif ve postoperatif dönemlerde normal oda ısısında ve ayrı kafeslerde tutularak 10 gün boyunca takip edildi. GRUP I (Sham Grubu) ve GRUP II'ye (İskemi-reperfüzyon Grubu) herhangi bir tedavi verilmeden takip edildi. GRUP III'e (Tedavi Grubu) 10 gün boyunca 100mg/kg/gün olacak şekilde kalsiyum dobesilat (DOXİUM® 500mg kapsül) 0.5 cc içme suyunda eritilip intragastrik gavaj yoluyla verildi. 10. gün sonunda laparotomi insizyonu ile GRUP I'e sadece laparotomi ve 24 saat sonra kan örnekleri alındıktan sonra sağ nefrektomi yapıldı. GRUP II ve GRUP III'e ise renal artere 45 dakika iskemi yapıldı. 24 saat sonra ise her gruptaki denek için işlem öncesi Glutasyon peroksidaz, Süperoksit dismutaz enzim düzeyleri, hemogram ve üre kreatin ölçümü için serum örnekleri alındı. Daha sonra ise sağ nefrektomi yapıp histopatolojik inceleme için sağ böbrek %10'luk formaldehit içinde ayrılıp patolojiye gönderildi. Deney sonunda tüm denekler American Veterinary Medical Association (AVMA) tarafından kabul edilebilir ötenazi yöntemlerinden olan dekapitasyon yoluyla sakrifiye edildi.

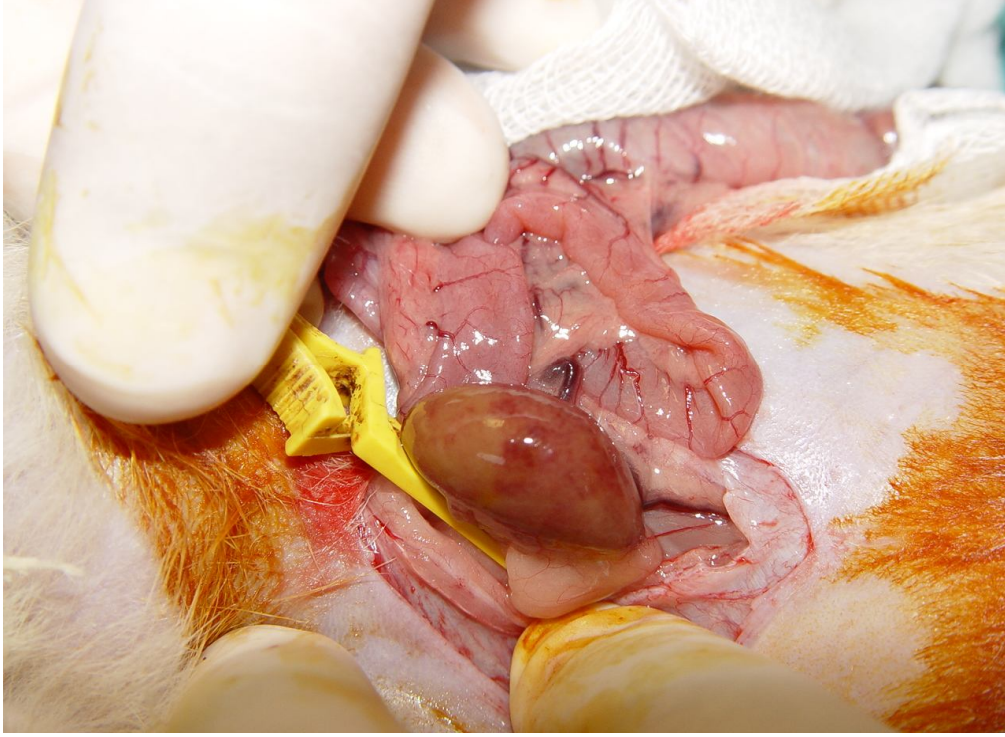
Grup I (Sham grubu) (n=8):

Bu gruptaki deneklere median insizyon ile laparotomi yapıldı ve insizyon tekrar kapatıldı. 24 saat sonra bu gruptaki ratlardan işlem öncesi Glutasyon peroksidaz, Süperoksit dismutaz enzim düzeyleri ve hemogram ve üre-kreatin ölçümü için serum örnekleri alındı. Daha sonra sağ nefrektomi uygulanıp böbrek dokusu histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit içinde ayrılıp patolojiye gönderildi.

Grup II (Kontrol grubu) (n=8):

Bu gruptaki deneklere median insizyon ile laparotomi yapıldı. Daha sonra bu deneklerin renal arterlerine klempl konulup 45 dakika iskemi için beklendi (Şekil 3.3). İskemi süresinden sonra mikrovasküler klempler çıkartılıp insizyonlar uygun şekilde kapatılıp 24 saat süresince reperfüzyon için beklendi. 24 saat sonra sağ nefrektomiden önce Glutasyon peroksidaz, Süperoksit dismutaz enzim düzeyleri, hemogram ve üre-kreatin ölçümü için serum örnekleri alındı. Daha sonra sağ

nefrektomi uygulanıp sağ böbrek histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit içinde ayrılıp patolojiye gönderildi.

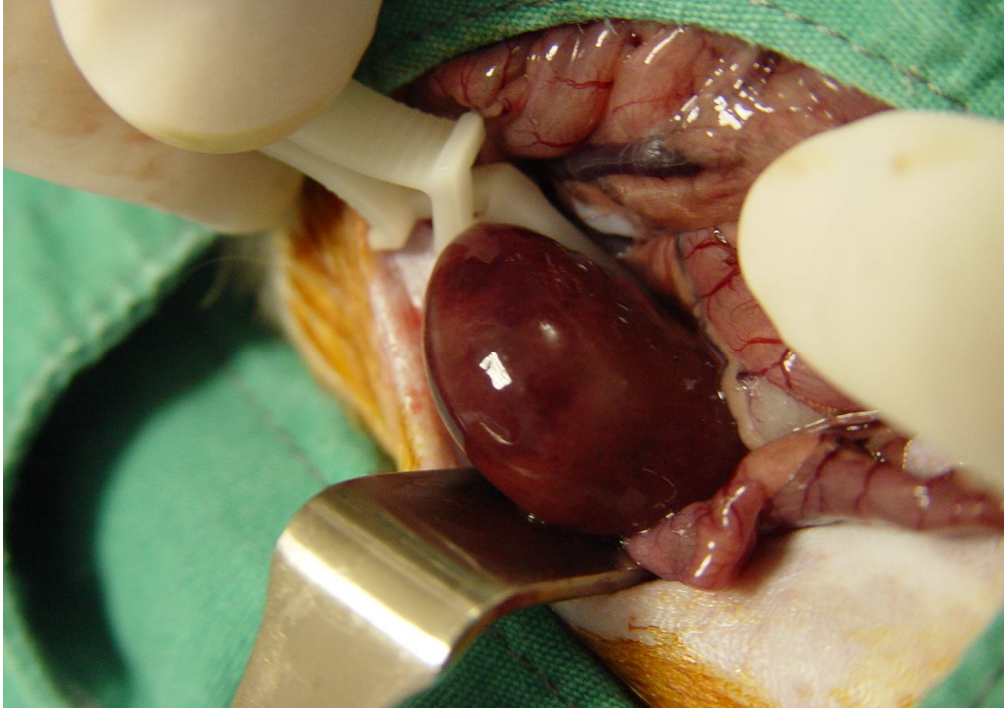


Şekil 3.3: Mikrovasküler klemple sıcak iskei modeli oluşturulmuş sağ böbrek(grupII)

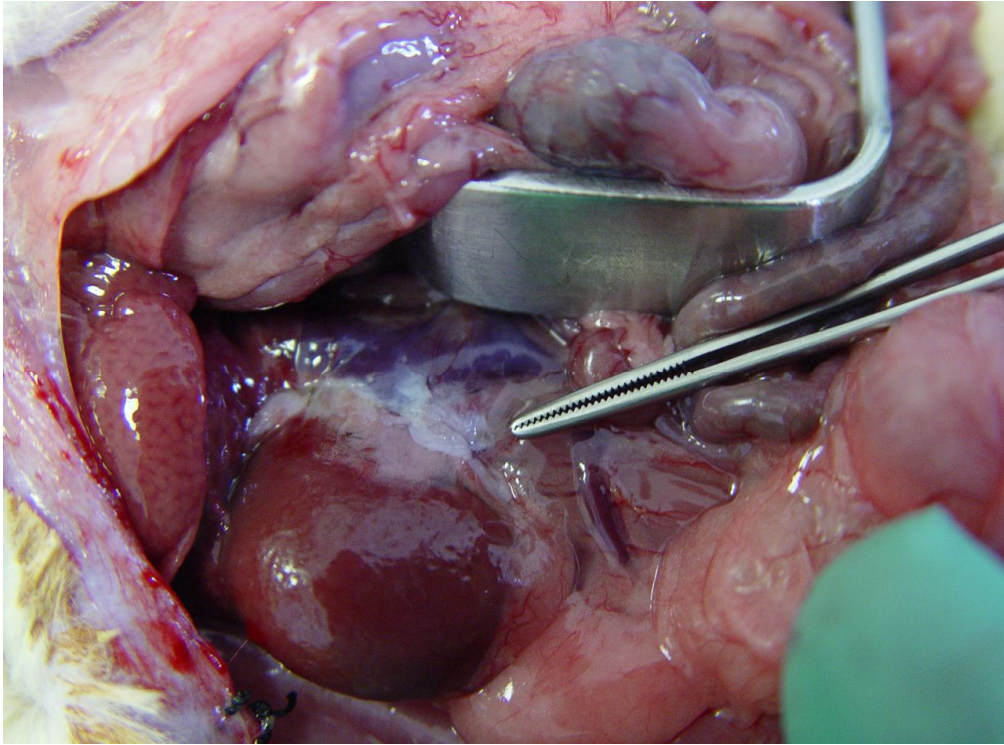
Grup III (Tedavi grubu) (n=8):

Daha önce 10 gün süreyle kalsiyum dobesilat verilmiş deneklere median insizyon ile laparotomi yapıldı. Daha sonra bu deneklerin renal arterlerine klemple konulup 45 dakika iskei için beklendi (Şekil 3.4). İskei süresinden sonra mikrovasküler klempler çıkartılıp insizyonlar uygun şekilde kapatılıp 24 saat süresince reperfüzyon için beklendi (Şekil 3.5). 24 saat sonra nefrektomiden önce Glutasyon peroksidaz, Süperoksit dismutaz enzim düzeyleri hemogram ve üre-kreatin ölçümü için kan örnekleri alındı. Deneklerden alınan kan örneklerinin tümü Vena Cava İnferior (VCI)'dan 10 cc'lik enjektör yardımıyla alındı (Şekil 3.6 ve 3.7). Daha sonra sağ nefrektomi yapıldı (Şekil 3.8).

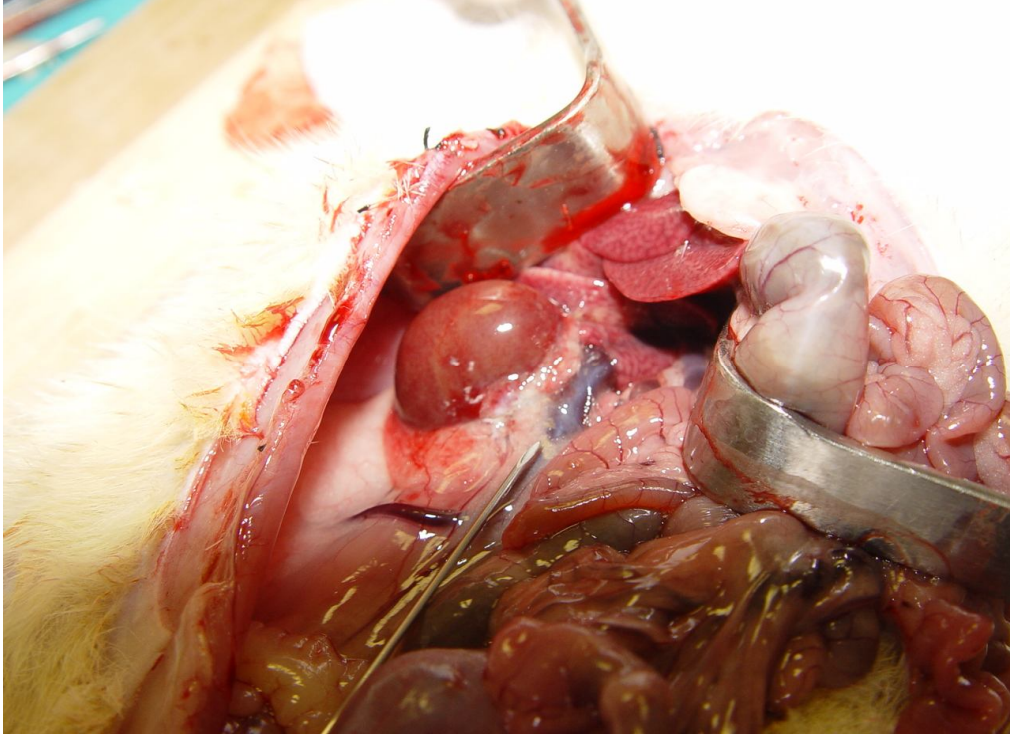
Çıkartılan böbrek dokuları, ışık mikroskop takibi için %10'luk formaldehit içinde tespit edilerek histolojik inceleme için ayrıldı.



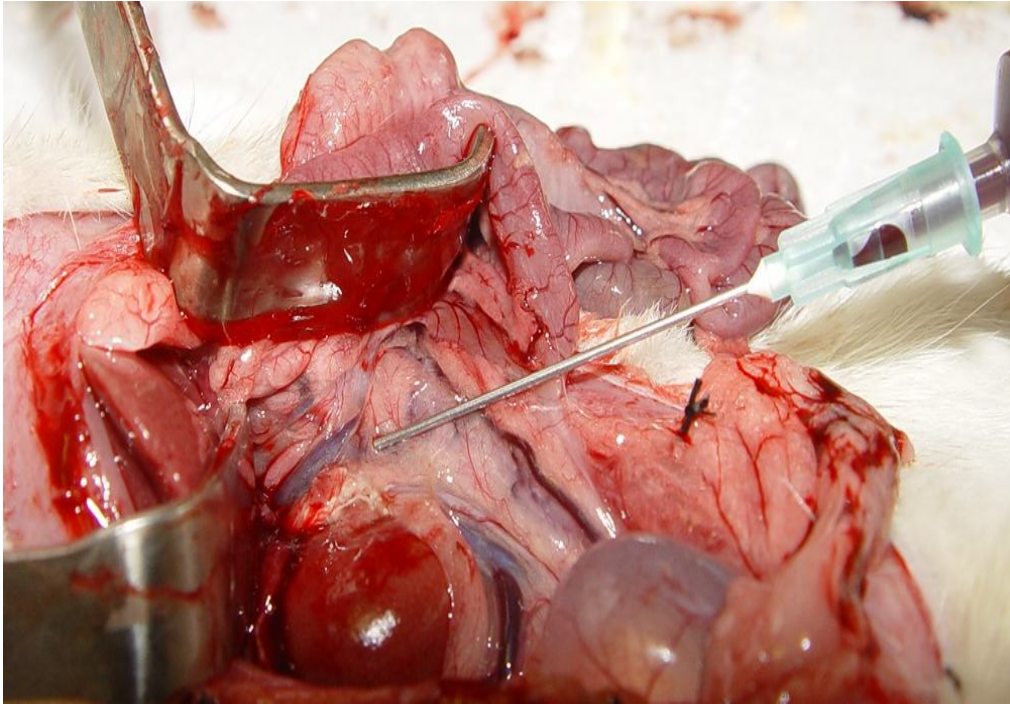
Şekil 3.4: Mikrovasküler klemple sıcak iskemi modeli oluşturulmuş sağ böbrek (grupIII)



Şekil 3.5: İskemi modeli sonrası reperfüzyon oluşturulmuş sağ böbrek



Şekil 3.6: VCI'dan biyokimyasal çalışma için kan alınması



Şekil 3.7: VCI ve VCI'dan alınmakta olan kan örneği



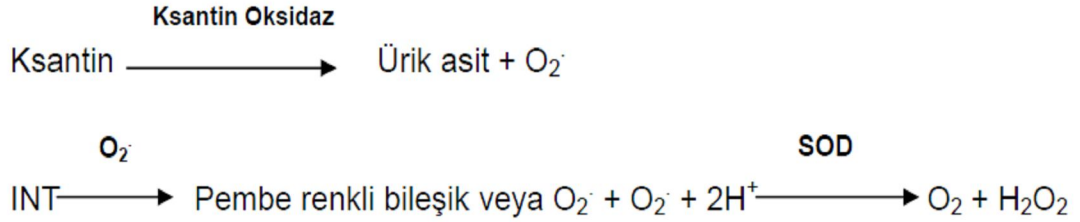
Şekil 3.8: İskemi-Reperfüzyon hasarı sonrası nefrektomi yapılmış sağ böbrek ve nefrektomi yapılmış non-iskemik sol böbrek

Süperoksit dismutaz (SOD) analizi

SOD analizi, Suttle (1986) metoduna dayalı ticari kit (Randox- Ransod SD125, UK) kullanılarak “ UV-2700 Model Double-Beam Spectrofotometer, Shimadzu Co. , Kyoto, Japan” marka spektrofotometre kullanılarak yapıldı^[94].

Eritrosit SOD Aktivitesinin Ölçümü

Bu yöntemde ksantin, ksantin oksidaz (XO) enziminin katalizi ile O_2^- radikali oluşturur. Oluşan bu radikal, 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-feniltetrazolyumklorid (INT) ile reaksiyona girer ve pembe renkli bir bileşik oluşturur veya SOD enziminin katalizlediği bir reaksiyon ile dismutasyona uğrayarak H_2O_2 ve O_2 meydana gelir. Böylece INT ile reaksiyona giren O_2^- miktarı azaldığı için reaksiyon inhibe olur.



Burada SOD aktivitesinin ölçümü yukarıdaki reaksiyonun inhibisyon derecesinin ölçülmesine dayanmaktadır. Açığa çıkan pembe renk eritrosit SOD aktivitesi ile ters orantılıdır.

Ayıraçlar :

- 1- 0.01 M fosfat tamponu (pH 7.0): 0.68 g KH_2PO_4 ve 0.71 g Na_2HPO_4 9 dL distile suda çözüldü ve pH'sı kontrol edilip 1 L' ye tamamlandı.
- 2- Ransod substrat: Ksantin (0.05 mmol/L), I.N.T. (0.025 mmol/L)
- 3- Ransod tampon: CAPS (40 mmol/L, pH 10.2) ; EDTA (0.94 mmol/L)
- 4- Ransod ksantin oksidaz: (80 U/L)
- 5- Ransod standart: (4.6 U/mL)

Deneyin yapılışı:

SOD aktivitesi ölçümü için, 0.5 mL tam kanın eritrosit paketi alındı ve hacmi soğuk distile su ile 2 mL'ye tamamlandı. Bu karışım +4 °C'de 15 dakika bekletilerek hemolizat elde edildi. Hemolizat 0.01 M fosfat tamponu (pH 7.0) ile 25 kez sulandırıldı. Deney 37° C' lik şartlarda gerçekleştirildi. Deney sırasında kör tüpüne 25 µL fosfat tamponu, numune tüpüne 25 µL dilüe hemolizat ve standart tüpüne 25 µL standart konulduktan sonra her bir tüpe sırasıyla 850 µL substrat ve 125 µL ksantin oksidaz enzimi eklenerek karıştırıldı ve 30 saniye bekledikten sonra her bir tüp için spektrofotometrede 505 nm dalga boyunda absorbans sıfırlandı ve 3 dakika sonra son absorbans kaydedilerek $\Delta A/\text{dk}$ hesaplandı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1: Eritrosit SOD aktivitesinin ölçümü

	KÖR	NUMUNE	STANDART
Fosfat tamponu	25 µL	-	-
Dilüe hemolizat	-	25 µL	-
Standart	-	-	25 µL
Substrat	850 µL	850 µL	850 µL
Karıştırıldı			
Ksantin Oksidaz	125 µL	125 µL	125 µL

Hesaplama :

Numunelerin ve standartların SOD'nı sağladığı INT redüksiyonunun % inhibisyon değeri hesaplanır :

$$\text{Numunenin/Standartların \% inhibisyon} = 100 - \left[\frac{\Delta A / dk \text{ Numune/Standart} \times 100}{\Delta A / dk \text{ Kör}} \right]$$

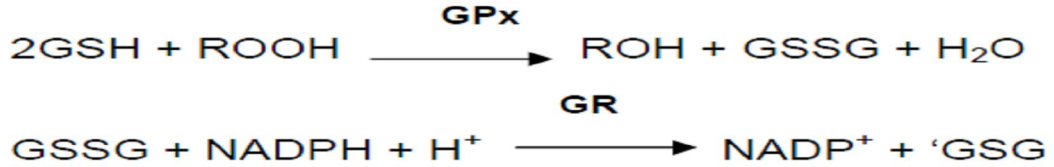
Standart konsantrasyonlarının logaritma değerleri y eksenine ve % inhibisyonları x eksenine yerleştirilerek standart eğri grafiği çizilir. Bu grafikten elde edilen $y = ax + b$ denkleminde formüle göre elde edilen numunelerin % inhibisyon değerleri denkleminde x yerine konularak y değerleri bulunur. y değerinin antilogaritması alındığında numunenin konsantrasyonu U/mL cinsinden belirlenmiş olur. U/mL olarak saptanan değer hemolizatın hemoglobin değerine bölündüğünde eritrosit SOD aktivitesi gram hemoglobin başına ünite olarak elde edilmiş olur (U/g Hb).

Glutasyon peroksidaz (GPX) analizi

GPx analizleri, Paglia ve Valentine (1967) metoduna dayalı ticari kit (Randox-Ransel 505, UK) kullanılarak “ UV-2700 Model Double-Beam Spectrofotometer, Shimadzu Co. , Kyoto, Japan” marka spektrofotometre kullanılarak yapıldı^[95].

Eritrosit Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivitesinin Ölçümü

GPx enzimi, glutasyonun (GSH) kümenhidroperoksit tarafından oksidasyonunu katalizlemektedir. Meydana gelen okside glutasyon, glutasyon redüktaz (GR) ve NADPH varlığında hızla redükte olurken aynı anda NADPH okside olarak NADP^+ 'ye dönüşmektedir.



Bu reaksiyon sırasında 340 nm'deki absorbans azalması (ΔAbs) GPx aktivitesi ile doğru orantılıdır.

Ayırıcılar:

1. Ransel ayırıcı: GSH (4 mmol/L) ve NADPH (0.34 mmol/L)
2. Ransel tampon: 4.3 mmol/L EDTA içeren 0.05 mol/L fosfat tamponu (pH:7.2)
3. Ransel kümenhidroperoksit: (0.18 mmol/L)
4. Ransel dilüe edici ayırıcı
5. Double Drabkin ayırıcı: 50 mg potasyum siyanid ve 200 mg potasyum ferri siyanid ve 1 gr sodyum bikarbonat 500 ml distile su ile hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

GPx aktivitesinin ölçümü için 50 μL tam kan, 1 mL Ransel sulandırıcı ayırıcı ile seyreltilerek hemolizat elde edildi ve 5 dakika bekletildikten sonra 1 mL Double Drabkin ayırıcı ile karıştırıldı. Bu karışım en geç 20 dakika içinde kullanıldı. 1 mL Ransel ayırıcı üzerine yukarıdaki karışımdan 20 μL eklendi. 37 °C lik su banyosunda 5 dakika bekletildikten sonra reaksiyonu başlatmak için üzerine kümenhidroperoksit çözeltisinden 40 μL ilave edildi. 1 dakika sonra başlangıç absorbansı kaydedilerek süre başlatıldı. 1. dakika ve 2. dakikada absorbanslar kaydedildi ve dakikadaki absorbans azalması ($\Delta \text{Abs/dk}$) hesaplandı. Kör olarak çalışma çözeltisine örnek yerine 20 μL distile su konuldu. (Tablo 3.2).

Tablo 3.2: GPx aktivitesi ölçümü

	KÖR	NUMUNE
Dilüe Numune	-	20 µL
Distile Su	20 µL	-
Reagent	1 mL	1 mL
Kümenhidroperoksit	40 µL	40 µL

Hesaplama:

Kör aktivitesinden numune aktivitesi çıkarıldı ve çıkan sonuç dilüsyon faktörü olan 41 ile (50 µL tam kan + 1 mL Ransel dilüe edici ayıraç + 1 mL Double Drabkin ayırıcı: Numune 41 kez dilüe edilmiş oldu) çarpıldı. U/L enzim aktivitesini veren bu değer numunenin Drabkin ayırıcı ile ölçülmüş g/L cinsinden hemoglobin değerine bölünerek hesaplandı. Sonuçlar gram hemoglobin başına ünite olarak verildi (U/g Hb).

Hemoglobin Tayini

Hemoglobin ölçümü (g/dL) orijinal kitleri ile elektriksel impedans metodu kullanılarak, Cell-Dyn 3700 cell counter (Abbott Diagnostics Division, Abbott Laboratories, Illinois, USA) cihazında yapıldı.

Üre ve Kreatinin analizi

Serum üre düzeyi (mg/dL) Abbott marka kit (Chicago, IL, USA, Katalog no:7D75-20) kullanılarak çalışıldı.

Serum kreatinin düzeyi (mg/dL) Abbott marka kit (Chicago, IL, USA, Katalog no: 7D64-20) kullanılarak çalışıldı.

Her iki biyokimyasal parametrede “Abbott Arcihitect Ci 8200 (Chicago, IL, USA)” otoanalizöründe çalışıldı.

Histopatolojik Değerlendirme

% 10'luk formolde tesbit edilen doku örnekleri parafin bloklara konularak 5 µm kalınlıkta alındı. Hematoksilen- Eosin ile boyandıktan sonra tüm preparatlar ışık mikroskopunda kör olarak incelendi. Akut renal yetmezlikte bulunan değişiklikleri değerlendiren Paller ve arkadaşlarının tanımladığı semikantitatif bir skala modifiye edilerek skorlandı^[37].

Modifiye edilmiş Paller ve arkadaşlarının tanımladığı skorlama sistemi:

- 1- Kronik inflamasyon (0, + , ++)
- 2-Tübüler epitalyal hücre düzleşmesi (0 , + ,++)
- 3-Sitoplazmik vakualizasyon (0, + ,++)
- 4-Hücre nekrozu ve iskemik değişiklikler (0, +, ++)
- 5-Tubuler lümen obstruksiyonu (0 ,+, ++)

İstatistiksel Analiz

Araştırma kapsamındaki tüm sıçanlardan elde edilen ölçümler bilgisayar ortamına aktarılıp gerekli hata kontrolleri ve düzeltmeler yapıldı. Ölçüm değerlerinin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile ve grafiksel olarak incelendi. SOD ve GPx değerlerinin normal dağılıma uyduğu, diğer parametrelerin ise uymadığı görüldü. Tanımlayıcı istatistikler, normal dağılıma uygunluğuna göre; ölçümle belirlenen değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma ya da ortanca (çeyreklikler arası sapma – Interquartile Range- IQR) ile niteliksel değişkenler için ise sayı ve yüzde ile gösterildi. Histopatolojik değerlendirmede kullanılan 5’li skorlama istatistiksel analizlerin yapılabilmesi ve yorum kolaylığı sağlamak amacıyla 3’lü skorlamaya (0: Yok ya da az değişiklik, 1: Orta derecede değişiklik, 2: Yaygın değişiklik) çevrildi. Deney grupları arasındaki karşılaştırmalarda normal dağılıma uyan değişkenlerde tek

yönlü varyans analizi (ANOVA), normal dağılıma uymayan değişkenlerde ise non-parametrik karşılığı olan Kruskal-Wallis varyans analizi uygulandı. Farklılık bulunduğunda, farkın kaynağını araştırmak üzere Bonferroni post-hoc testi veya Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney testi kullanılarak ikili karşılaştırmalar yapıldı. Kategorik değişkenlerin gruplar arasında karşılaştırılması için ki-kare ya da ki-kare likelihood ratio değerleri hesaplandı. İstatistiksel analiz ve hesaplamalar için MS-Excel ve SPSS for Win. Ver. 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL., USA) paket programları kullanıldı. İstatistiksel kararlarda $p \leq 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR:

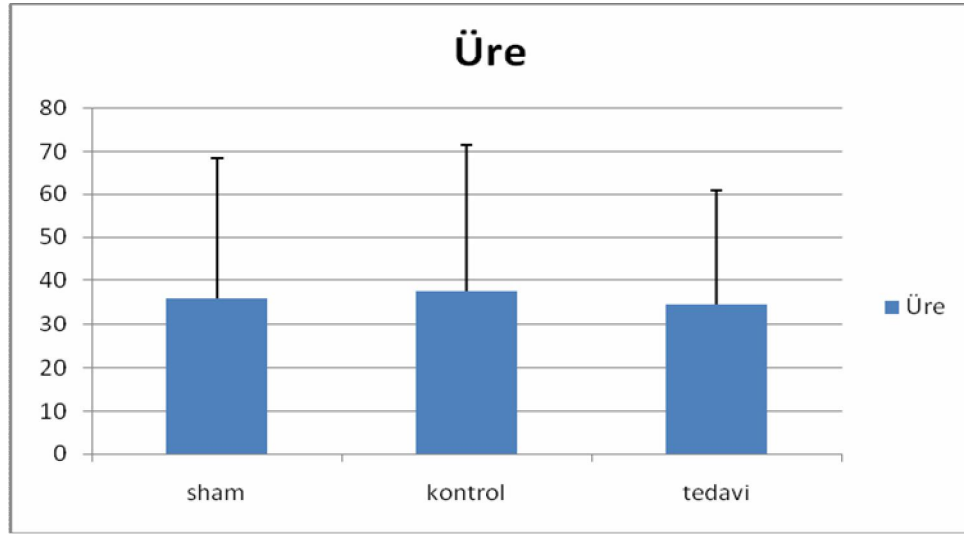
Çalışmada sham grubu olarak kullanılan ratlarda üre değeri 28 ile 36 arasında değişmekteydi. Sham grubunda üre ortancası 36 (IQR=32.50) olarak belirlendi. Diğer gruplardaki üre değerleri ve gruplara göre karşılaştırma sonuçları Tablo 4.1 ve Grafik 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: Üre değerlerinin deney gruplarına göre tanımlayıcı değerleri ve karşılaştırma sonuçları

Grup	Minimum	Maximum	Ortanca	IQR	X ² *	P
Sham	28	36	36.00	32.50	2.239	0.326
Kontrol	34	90	37.50	34.00		
Tedavi	24	27	34.50	26.50		

*: Kruskal-Wallis non-parametrik varyans analizi sonucu

Tablo 4.1 incelendiğinde; Sham grubunda 36 olan ortanca üre değerinin kontrol grubunda artarak 37.50’ye yükseldiği ve tedavi grubunda ise en düşük olduğu görülmüştür. Deney grupları arasında üre değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($X^2=2.239$; $p=0.326$).



Grafik 4.1: Deney gruplarına göre üre değerlerinin ortancaları

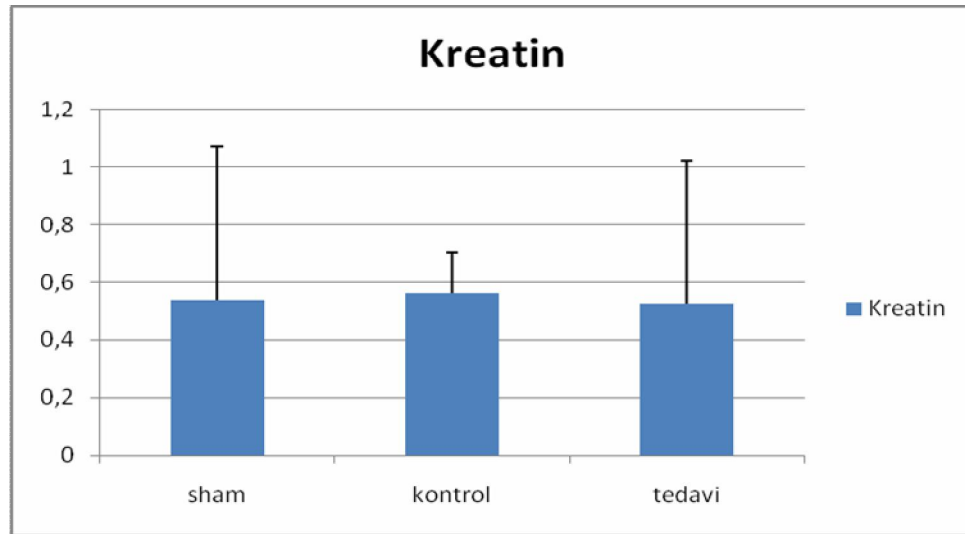
Çalışmada sham grubu olarak kullanılan ratlarda kreatin değeri 0.51 ile 0.55 arasında değişmekteydi. Sham grubunda kreatin değerinin ortancası 0.54 (IQR=0.53) olarak belirlendi. Kontrol grubu; Sham ve Tedavi gruplarından daha yüksek kreatin değerine sahiptir. Tedavi grubunun ortanca kreatin değeri Sham grubundan daha

düşük bulunmuştur. Diğer gruplardaki kreatin değerleri ve gruplara göre karşılaştırma sonuçları Tablo 4.2’de ve Grafik 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2: Kreatinin deney gruplarına göre tanımlayıcı değerleri ve karşılaştırma sonuçları

Grup	Minimum	Maximum	Ortanca	IQR	X ^{2*}	P
Sham	0.51	0.55	0.54	0.53	11.105	0.004
Kontrol	0.54	0.68	0.57	0.55		
Tedavi	0.49	0.57	0.53	0.50		

*: Kruskal-Wallis non-parametrik varyans analizi sonucu



Grafik 4.2: Deney gruplarına göre kreatin değerlerinin ortancaları

Tablo 4.2 incelendiğinde; deney gruplarından en az birinin ortancasının diğerlerinden istatistiksel olarak farklı olduğu görülmektedir ($X^2=11.105$; $p=0.004$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirleyebilmek için Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney testi ile post-hoc olarak ikili karşılaştırmalar yapıldı. Bonferroni düzeltmesinde $p \leq 0.05$ yerine $p \leq \frac{0.05}{\text{ikili karşılaştırma sayısı}}$ olarak alınır.

Bonferroni düzeltmesi sonucu yeni p değeri $p=0.016$ olarak alınmıştır ve Post-hoc ikili karşılaştırma sonuçları Tablo 4.3’de gösterilmiştir.

Tablo 4.3: Kreatin değerinin deney gruplarına göre post-hoc ikili karşılaştırma sonuçları

Gruplar	Kontrol		Tedavi	
	Z	P	Z	P
Sham	2.774	0.005*	1.333	0.195
Kontrol			2.743	0.005*
Tedavi				

*: İstatistiksel olarak anlamlı farklılık

Tablo 4.3 incelendiğinde; Kontrol ile Sham ve Tedavi grupları arasındaki kreatin düzeyi farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p=0.005$) görülmüştür.

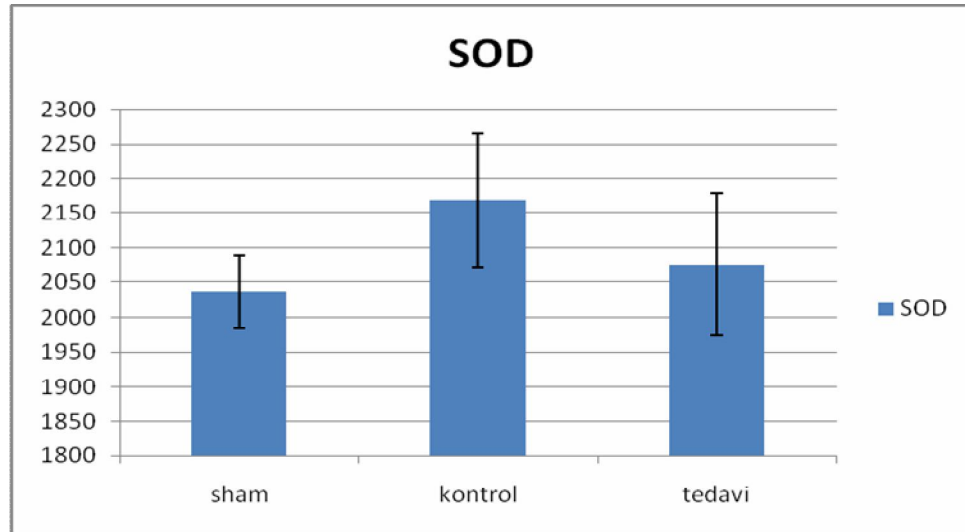
Çalışmada Sham grubu olarak kullanılan ratlarda SOD değeri 1834.40 ile 2144.88 arasında değişmekteydi. Sham grubunda SOD ortalama değeri 2036.39 ± 103.81 olarak belirlendi. Diğer gruplardaki SOD değerleri ve gruplara göre karşılaştırma sonuçları Tablo 4.4’de ve Grafik 4.3’de gösterilmiştir.

Tablo 4.4: SOD’ un deney gruplarına göre tanımlayıcı değerleri ve karşılaştırma sonuçları

Grup	Minimum	Maximum	Ortalama	Std. Sapma	F*	P
Sham	1834.40	2144.88	2036.39	103.81	1.237	0.311
Kontrol	1951.69	2492.01	2168.97	192.52		
Tedavi	1807.69	2430.34	2076.15	204.88		

*: ANOVA tek yönlü varyans analizi sonucu

Tablo 4.4 incelendiğinde; Sham grubunda 2036.39 olan ortalama SOD değerinin Kontrol grubunda artarak 2168.97’ye yükseldiği görülmüştür. Her ne kadar Tedavi grubunun ortalama SOD değeri kontrol grubundan düşük olsa da istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($F=1.237$; $p=0.311$).



Grafik 4.3: Deney gruplarına göre SOD değerlerinin ortalamaları

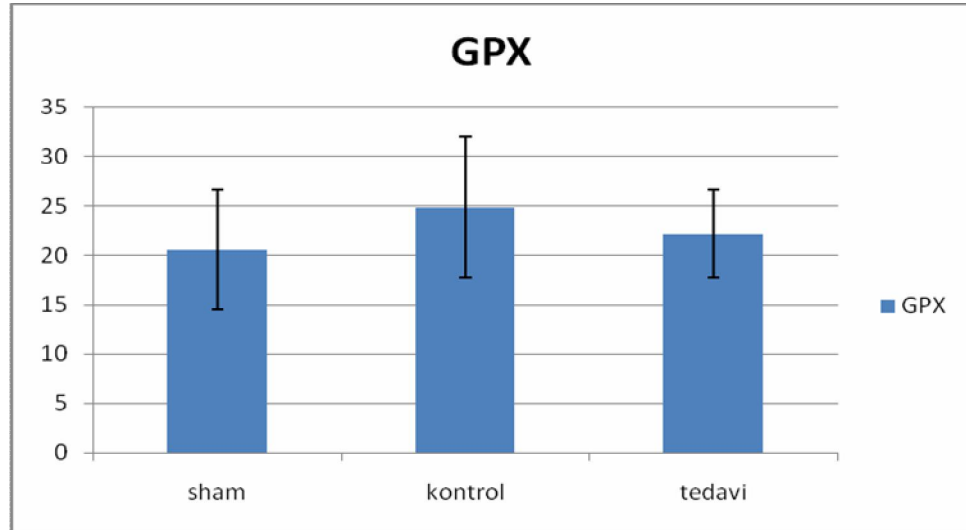
Çalışmada Sham grubu olarak kullanılan ratlarda GPx değeri 4.7 ile 38.8 arasında değişmekteydi. Sham grubunda GPx değerinin ortalama değeri 20.58 ± 12.14 olarak belirlendi. Diğer gruplardaki GPx değerleri ve gruplara göre karşılaştırma sonuçları Tablo 4.5’de ve Grafik 4.4’de gösterilmiştir.

Tablo 4.5: GPx' in deney gruplarına göre tanımlayıcı değerleri ve karşılaştırma sonuçları

Grup	Minimum	Maximum	Ortalama	Std. Sapma	F*	P
Sham	4.70	38.80	20.58	12.14	0.262	0.772
Kontrol	5.57	47.15	24.87	14.16		
Tedavi	8.83	35.86	22.19	8.98		

*: ANOVA tek yönlü varyans analizi sonucu

Tablo 4.5 incelendiğinde; Sham grubunda 20.58 olan ortalama GPx değerinin Kontrol grubunda artarak 24.87'ye yükseldiği ve Tedavi grubunda ise ortalama GPx değerinin kontrol grubundan düşük olduğu görülmüştür. Deney grupları arasında GPx değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($F=0.262$; $p=0.772$).

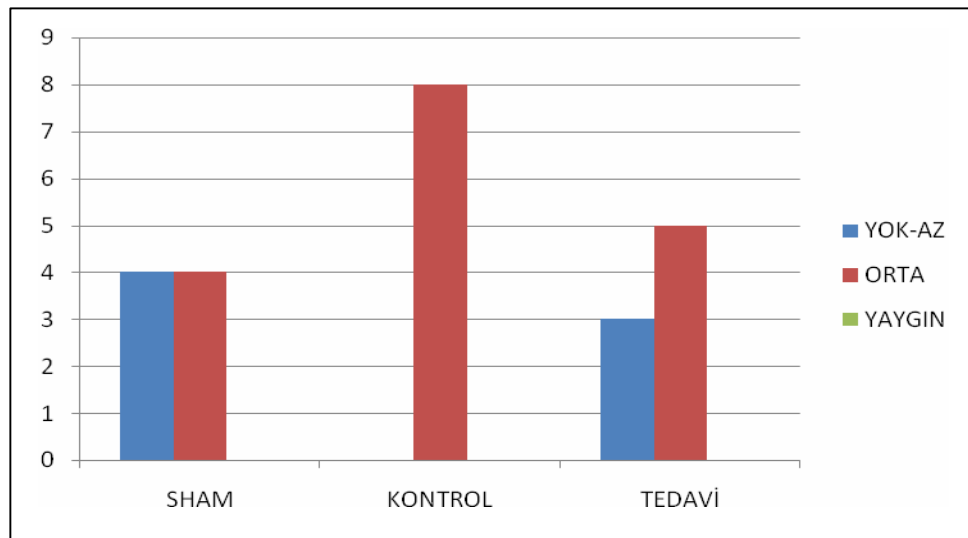
**Grafik 4.4:** Deney gruplarına göre GPX değerlerinin ortalamaları

Kronik inflamasyon parametresinin deney gruplarına göre dağılımı incelendiğinde; Sham grubunda Kronik inflamasyon skorlamasında 4 (%50) sıçan “Yok-Az” skorunu alırken 4 (%50) sıçan “Orta” skorunu almıştır. Kontrol grubundaki ratların tamamı (8, %100.0) “Orta” skorunu almıştır. Deney gruplarına göre Kronik inflamasyonun dağılımı Tablo 4.6’da Grafik 4.5’te verilmiştir.

Tablo 4.6: Kronik inflamasyon parametresinin deney gruplarına göre dağılımı

Gruplar		Kronik inflamasyon parametresi			Total
		Yok-Az	Orta	Yaygın	
Sham	n	4	4	0	8
	%	50	50	0	100.0
Kontrol	n	0	8	0	8
	%	0	100	0	100.0
Tedavi	n	3	5	0	8
	%	37.5	62.5	0	100.0
Total	n	7	17	0	24
	%	29.2	70.8	0	100.0

Kronik inflamasyon parametresinin deney gruplarına göre dağılımının istatistiksel olarak da anlamlı farklılık gösterdiği görülmüştür ($X^2=7.299$; $p=0.026$). Farklılığın hangi deney grubundan kaynaklandığını belirleyebilmek için 3x3 düzenindeki tablodan 2x3 düzeninde 3 ayrı tablo elde edildi ve tüm tablolar için tek tek ki-kare değerleri hesaplandı. Buna göre; Sham ve Kontrol grubu arasında ($X^2=6.904$; $p=0.009$) ve Kontrol ve Tedavi grupları arasında ($X^2=4.857$; $p=0.028$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunurken Sham ve Tedavi grupları arasında ($X^2=0.255$; $p=0.614$) istatistiksel farklılık bulunmamıştır. Tedavi ve Sham gruplarında kronik inflamasyon skorları benzerdir. Kronik inflamasyon skoru en yüksek kontrol grubunda iken, tedavi grubunun kronik inflamasyon skoru Sham grubuna oldukça yakındır.

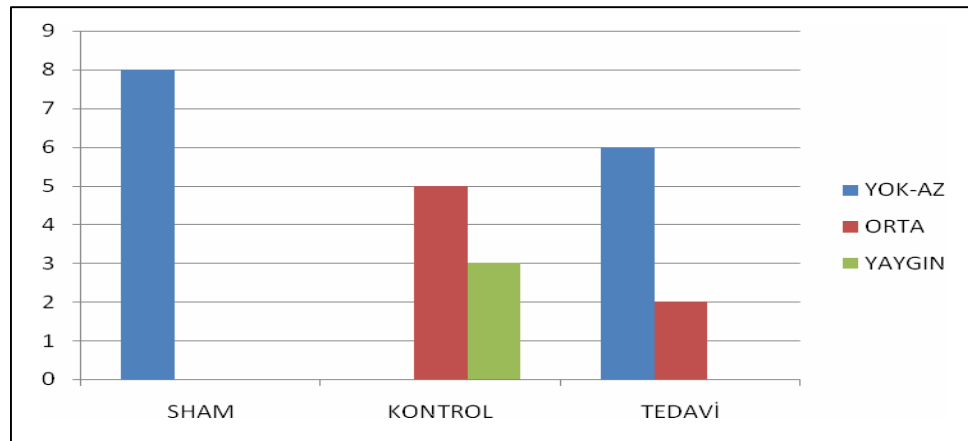
**Grafik 4.5:** Kronik inflamasyon parametresinin deney gruplarına göre dağılımı

Tübüler epitelyal hücre düzleşmesi parametresinin deney gruplarına göre dağılımı incelendiğinde; Sham grubunun tamamı “Yok-Az” skorunu alırken, Kontrol grubundaki sıçanların 5’i (% 62.5) “orta” skoru, 3’ü (% 37.5) “Yaygın” skoru almıştır. Deney gruplarına göre tübüler epitelyal hücre düzleşmesinin dağılımı Tablo 4.7 ve Grafik 4.6’da verilmiştir.

Tablo 4.7: Tübüler epitelyal hücre düzleşmesi parametresinin deney gruplarına göre dağılımı

Gruplar		Tübüler epitelyal hücre düzleşmesi parametresi			Total
		Yok-Az	Orta	Yaygın	
Sham	n	8	0	0	8
	%	100	0	0	100.0
Kontrol	n	0	5	3	8
	%	0	62.5	37.5	100.0
Tedavi	n	6	2	0	8
	%	75	25	0	100.0
Total	n	14	7	3	24
	%	58.3	29.2	12.5	100.0

Tübüler epitelyal hücre düzleşmesi parametresinin deney gruplarına göre dağılımının istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği görülmüştür ($X^2=26,882$; $p<0.001$). Farklılığın hangi deney grubundan kaynaklandığını belirleyebilmek için yapılan 2x3 düzenindeki ayrı tablolara göre; Sham ile Kontrol grubu arasında ($X^2=22,181$; $p<0.001$) ve Kontrol ile Tedavi grupları arasında ($X^2=15,451$; $p<0.001$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunurken Sham ile Tedavi grupları arasında ($X^2=3,059$; $p=0,080$) istatistiksel farklılık bulunmamıştır. Tedavi ve Sham gruplarında Tübüler epitelyal hücre düzleşmesi skorları benzerdir.



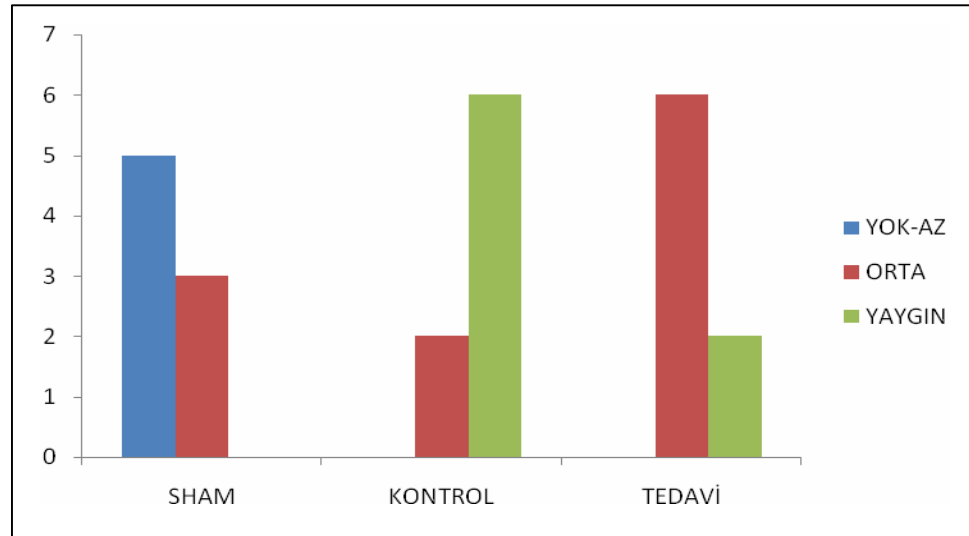
Grafik 4.6: Tübüler epitelyal hücre düzleşmesi parametresinin deney gruplarına göre dağılımı

Sitoplazmik vakuolizasyon parametresinin deney gruplarına göre dağılımı incelendiğinde; Tedavi grubunda sıçanların 2'si (% 25) “Yaygın” skorunu alırken 6'sı (% 75) “Orta” skoru almıştır. Deney gruplarına göre sitoplazmik vakuolizasyon parametresinin dağılımı Tablo 4.8 ve Grafik 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.8: Sitoplazmik vakuolizasyon parametresinin deney gruplarına göre dağılımı

Gruplar		Sitoplazmik vakuolizasyon parametresi			Total
		Yok-Az	Orta	Yaygın	
Sham	N	5	3	0	8
	%	62.5	37.5	0	100.0
Kontrol	N	0	2	6	8
	%	0	25	75	100.0
Tedavi	N	0	6	2	8
	%	0	75	25	100.0
Total	N	5	11	8	24
	%	20.8	45.8	33.4	100.0

Sitoplazmik vakuolizasyon parametresinin deney gruplarına göre dağılımının istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği görülmüştür ($X^2=21,848$; $p<0.001$). Farklılığın hangi deney grubundan kaynaklandığını belirleyebilmek için yapılan 2x3 düzenindeki ayrı tablolara göre; Sham ve Kontrol grubu arasında ($X^2=15,451$; $p<0.001$), Kontrol ve Tedavi grupları arasında ($X^2=10,723$; $p=0,005$) ve Sham ve Tedavi grupları arasında ($X^2=4,186$; $p=0,041$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur.



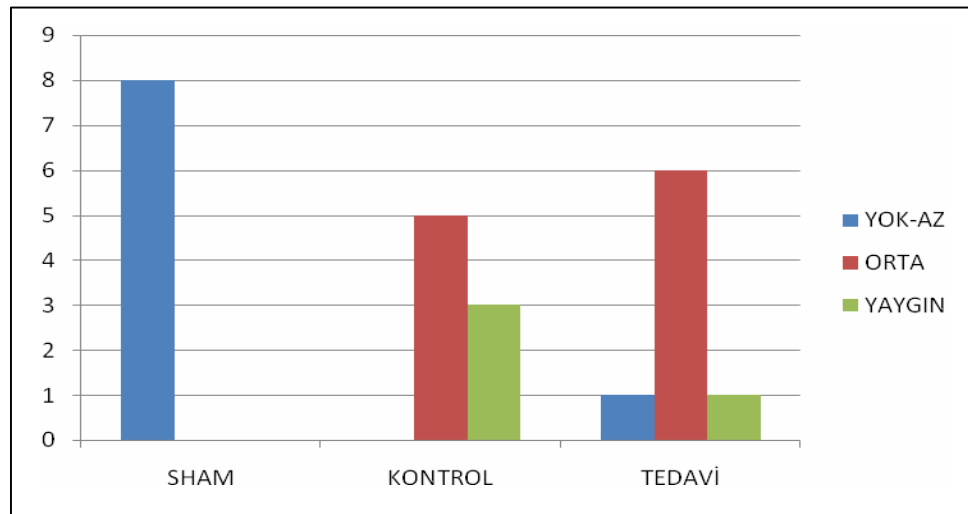
Grafik 4.7: Sitoplazmik vakuolizasyon parametresinin deney gruplarına göre dağılımı

Hücre nekrozu parametresi deney gruplarına göre dağılımı incelendiğinde; Sham grubunun tamamının “Yok-Az” skorunu aldığı görülmüştür. Deney gruplarına göre hücre nekrozu parametresinin dağılımı Tablo 4.9’da Grafik 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.9: Hücre nekrozu parametresinin deney gruplarına göre dağılımı

Gruplar		Hücre nekrozu parametresi			Total
		Yok-Az	Orta	Yaygın	
Sham	n	8	0	0	8
	%	100	0	0	100.0
Kontrol	n	0	5	3	8
	%	0	62.5	37.5	100.0
Tedavi	n	1	6	1	8
	%	12.5	75	12.5	100.0
Total	n	9	11	4	24
	%	37.5	45.8	16.7	100.0

Hücre nekrozu parametresinin deney gruplarına göre dağılımının istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği görülmüştür ($X^2=26,798$; $p<0.001$). Farklılığın hangi deney grubundan kaynaklandığını belirleyebilmek için yapılan 2x3 düzenindeki ayrı tablolara göre; Sham ve Kontrol grubu arasında ($X^2=22,181$; $p<0.001$) ve Kontrol ve Tedavi grupları arasında ($X^2=15,902$; $p<0.001$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunurken Sham ve Tedavi grupları arasında ($X^2=2,524$; $p=0,283$) istatistiksel farklılık bulunmamıştır. Tedavi ve Sham gruplarında hücre nekrozu skorları benzerdir.



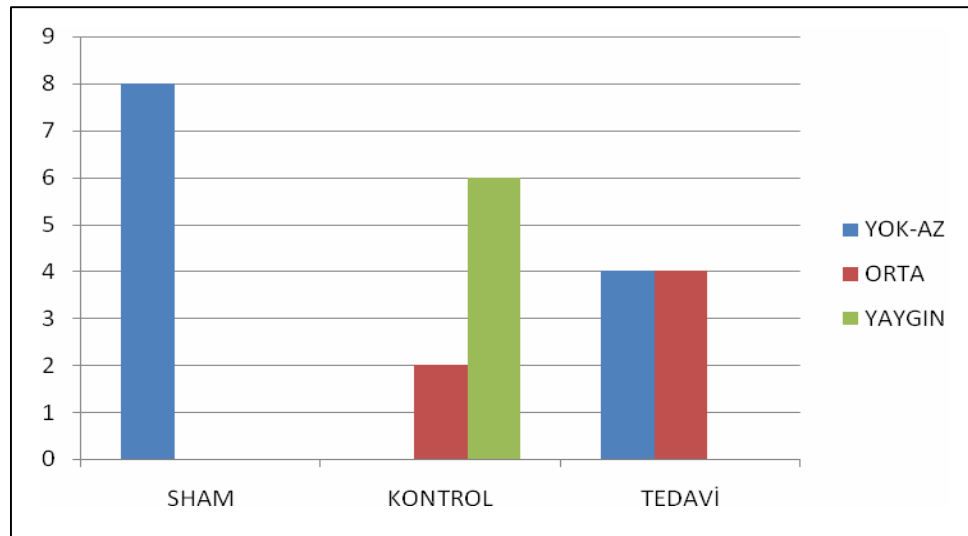
Grafik 4.8: Hücre nekrozu parametresinin deney gruplarına göre dağılımı

Tübüler lümen obstrüksiyonu parametresinin deney gruplarına göre dağılımı incelendiğinde; Sham grubunun tamamının “Yok-Az” skorunu aldığı görülmüştür. Deney gruplarına göre tübüler lümen obstrüksiyonu parametresinin dağılımı Tablo 4.10 ve Grafik 4.9’da verilmiştir.

Tablo 4.10: Tübüler lümen obstrüksiyonu parametresinin deney gruplarına göre dağılımı

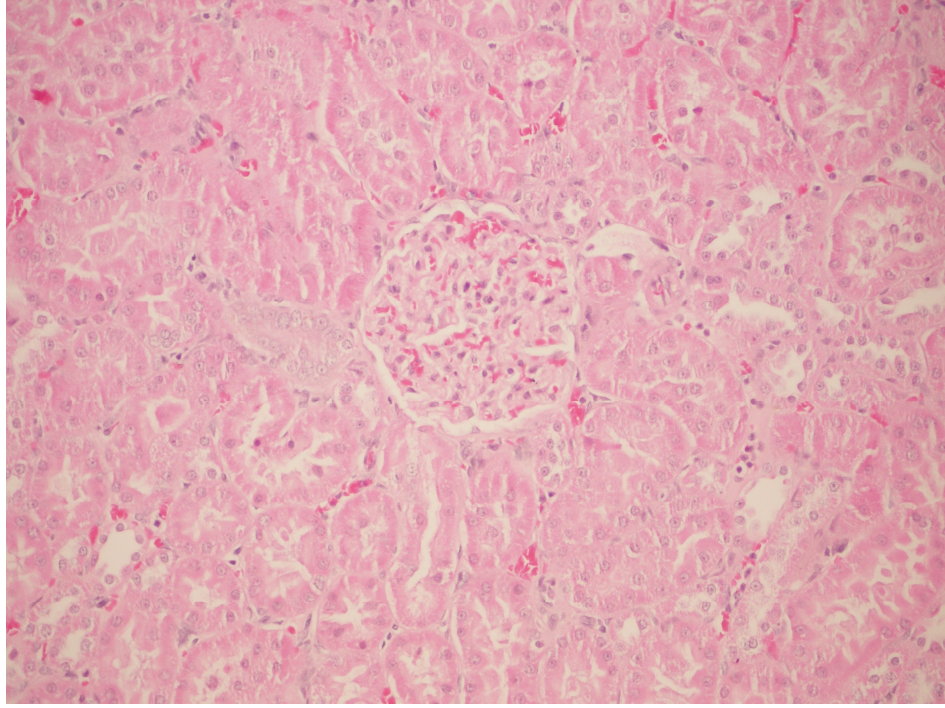
Gruplar		Tübüler lümen obstrüksiyonu parametresi			Total
		Yok-Az	Orta	Yaygın	
Sham	n	8	0	0	8
	%	100	0	0	100.0
Kontrol	n	0	2	6	8
	%	0	25	75	100.0
Tedavi	n	4	4	0	8
	%	50	50	0	100.0
Total	n	12	6	6	24
	%	50	25	25	100.0

Tübüler lümen obstrüksiyonu parametresinin deney gruplarına göre dağılımının istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği görülmüştür ($X^2=29,819$; $p<0.001$). Farklılığın hangi deney grubundan kaynaklandığını belirleyebilmek için yapılan 2x3 düzenindeki ayrı tablolara göre; Sham ve Kontrol grubu arasında ($X^2=22,181$; $p<0.001$), Kontrol ve Tedavi grupları arasında ($X^2=6,904$; $p=0,009$) ve Sham ve Tedavi grupları arasında ($X^2=14,543$; $p=0,001$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur.

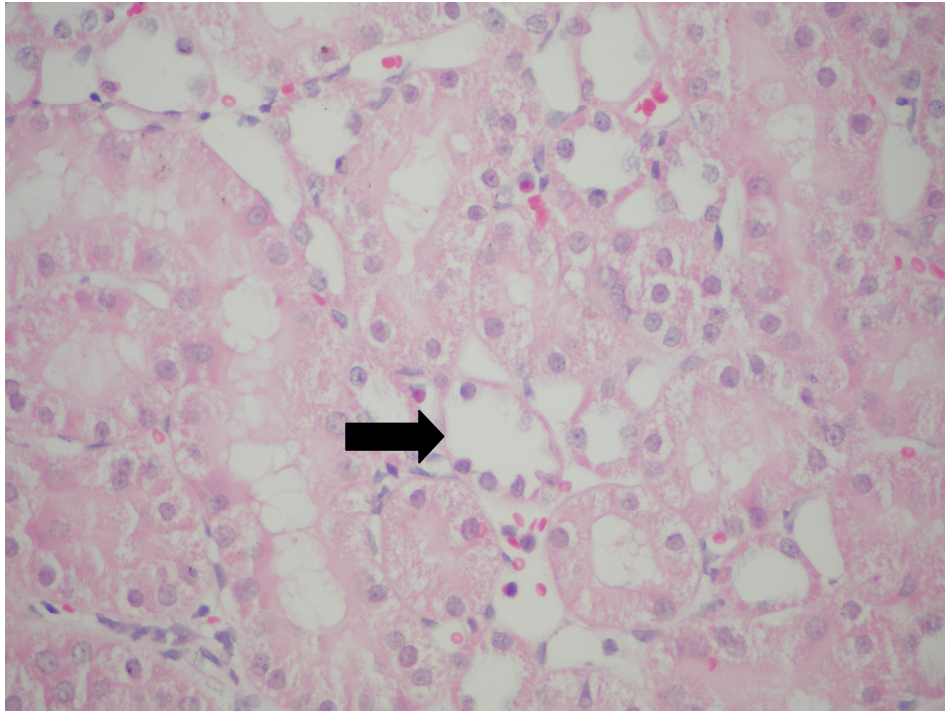


Grafik 4.9: Tübüler lümen obstrüksiyonu parametresinin deney gruplarına göre dağılımı

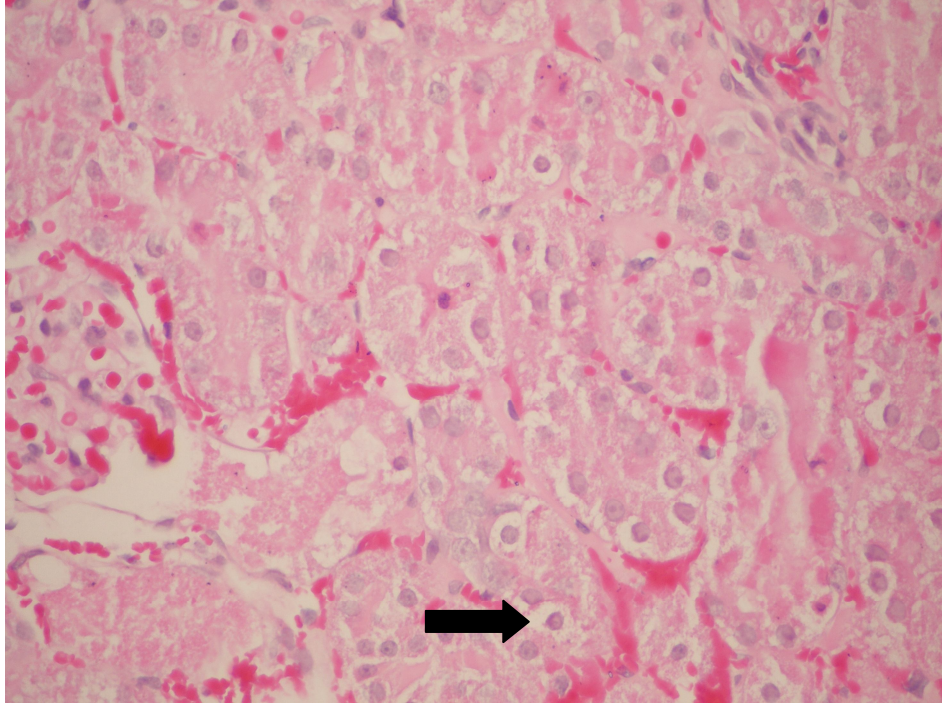
Sonuçta tedavi grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında histopatolojik değişiklikler tedavi grubunda belirgin olarak daha az izlenmekteydi (Şekil 4.1- 4.6).



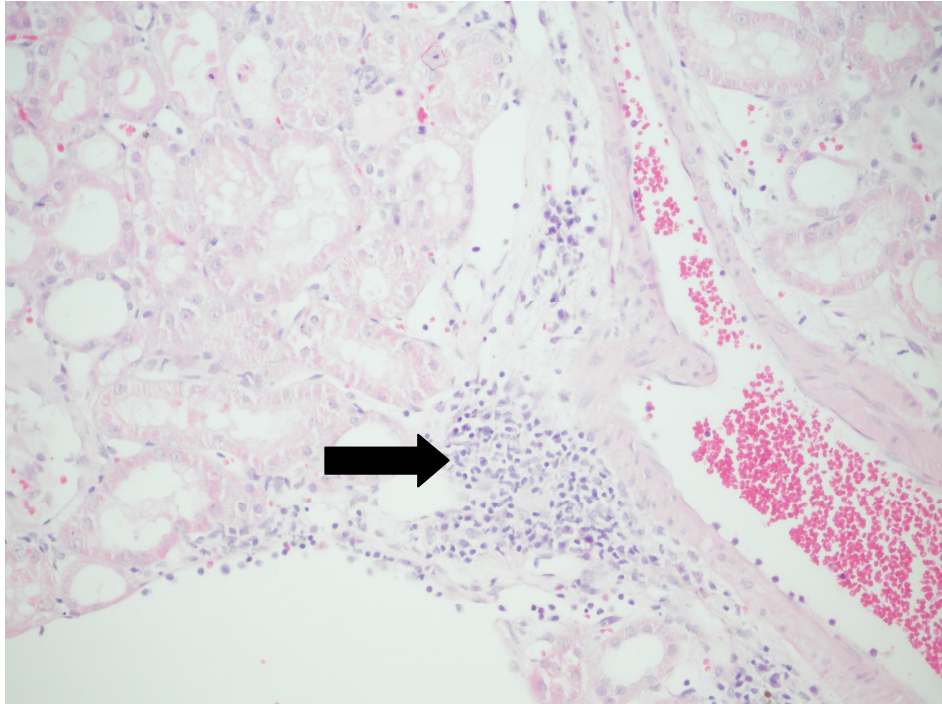
Şekil 4.1: Sham grubuna ait normal veya normale yakın böbrek dokusu. (HE x 100).



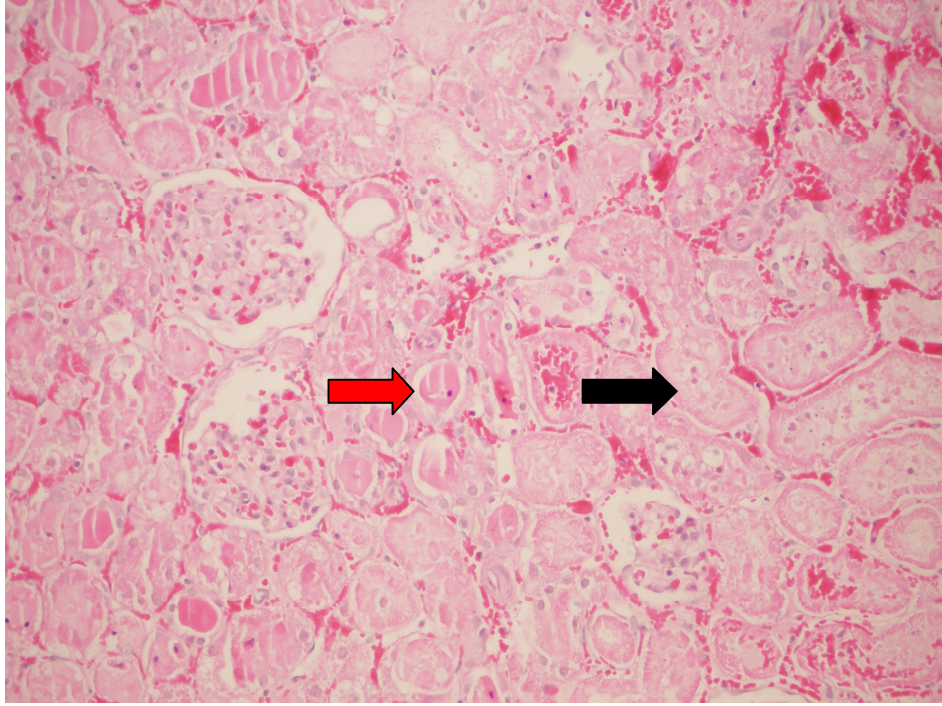
Şekil 4.2: Kontrol grubundaki epitelyal hücre düzleşmesi (HE x 200).



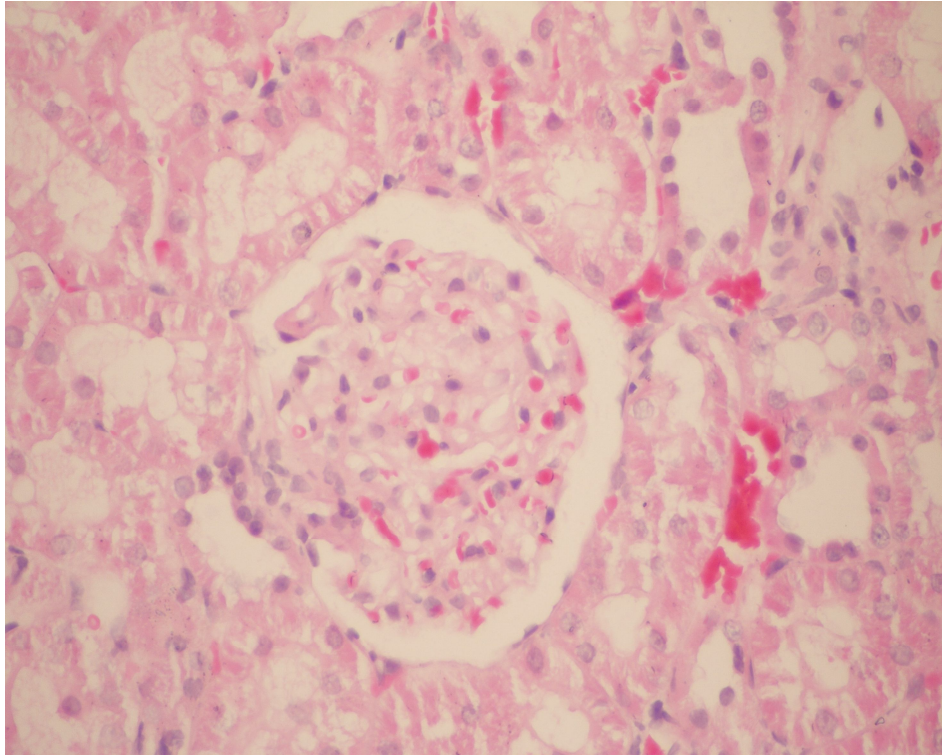
Şekil 4.3: Kontrol grubundaki sitoplazmik vakuolizasyon (HE x 200).



Şekil 4.4: Kontrol grubundaki kronik inflamasyon (HE x 100).



Şekil 4.5: Kontrol grubundaki nekroz (siyah ok) ve tübüler lümen obstrüksiyonu (kırmızı ok) görüntüsü (HE x 200).



Şekil 4.6: Tedavi grubunda sham grubuna benzer histopatolojik bulgular (HE x 200).

5.TARTIŞMA

Deneysel iskemi reperfüzyon hasarına organların verdiği yanıt ratlarda çok iyi belirlenmiş ve literatürdeki çalışmaların çoğunda ratlar tercih edilmiştir^[96,97,98,99,100].

İskemi sırasında doku oksijensiz kalarak zedelenmekte ve dolaşım yeniden sağlandığında bu sefer de ortama giren oksijenin neden olduğu bir seri olay sonucu doku hasarı daha da artmaktadır^[37,101,102,].

İskemi–reperfüzyon fenomeni inflamatuvar cevap oluşmasına neden olan serbest oksijen radikalleri artışı ile karakterizedir. Endotel ve lökositlerden meydana gelen serbest oksijen radikalleri protein, lipid ve nükleik asitlerle oksidasyona ve biyolojik zararın nitrasyonuna neden olmaktadır. Endoteldeki ksantin oksidaz serbest oksijen radikalleri oluşumundan sorumludur ve inflamasyondaki lökositlerin dağılımına neden olan kemotaktik faktörlerin oluşumuna ve primer iskemik hasara neden olmaktadır.

Böbrek dokusunda iskemi-reperfüzyon hasarını oluşturan serbest oksijen radikallerinin kaynağını, mitokondrial elektron transport zinciri, araşidonik asit metabolitleri, hücre içi kalsiyum iyon artışı, ksantin oksidaz sistemi, demir iyonu gibi etkenler oluşturmaktadır. Bunlar birbirini zincirleme şekilde etkileyerek hücre fonksiyonlarını bozmakta, membran yıkımını artırmakta ve endojen toksinleri açığa çıkarmaktadır^[103,104,105].

Böbrek kan akımındaki azalma veya kesilme ve sonradan oluşan reperfüzyon ile birlikte çeşitli derecelerde doku hasarı oluşturmaktadır. Böbrek İRH’de, iskemi sonrası böbrek fonksiyon bozukluklarında SOR en önemli rolü oynamaktadır. Ayrıca reperfüzyonu takiben SOR’da hızla yükselme olduğu ve bunun sonucu olarak lipid peroksidasyon düzeyinde artış olduğu bildirilmektedir. Hücreler oksidatif hasarı önleyen ya da kısmen azaltan mekanizmalara sahiptir. Doku hasarının tetiklemesi ile gelişen biyokimyasal olaylarda antioksidan sistem yetersiz kalmaktadır. İskemik dokuda oksidanlara bağlı olarak iskemi süresince glutatyon miktarının azaldığı ve SOD, CAT ve GPx gibi enzimlerin inaktivasyonunun hızlandığı ve buna bağlı olarak

hücrelerin reperfüzyon sırasında hızla oluşan oksijen radikallerinin etkisine daha duyarlı hale geldiği rapor edilmektedir. İskemi-reperfüzyon hasarının geriye dönebilmesi, böbrek tübüler hücrelerinin nefron boyunca hasarlı epitel hücrelerinin yerini alma ve yenilenme yeteneğine bağlıdır.

Transplantasyon, travma, anatrofik nefrolitotomi, nefron koruyucu cerrahi ve renal arter cerrahisi gibi renal kan akımını azaltan cerrahi girişimlerin yaygınlaşması ile birlikte iskemi-reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan patolojiden de sıkça söz edilir olmuştur. Yapılan birçok böbrek ameliyatında postoperatif dönemde oluşan serbest radikaller böbrekte oluşan hasarı artırmaktadır. Bu bilgilerden yola çıkılarak böbreğe yapılacak herhangi bir girişim öncesi birtakım madde veya ilaçların kullanımıyla iskemi reperfüzyon hasarının engelleneceği ve hasarın önleneceği düşünülmüştür.

Literatür gözden geçirildiğinde böbrek iskemi reperfüzyon hasarının engellenmesinde birçok ajan kullanılmıştır. L-karnitin, N-asetilsistein, PGE1 deneysel olarak kullanılmış ve sonuçları anlamlı bulunmuştur. Bu ajanların deneysel düzeyde olsa bile böbrekte meydana gelebilecek iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde anlamlı olacağı ihtimaldir. Bu maddelerin kullanımı, başka hangi maddelerin kullanımının iskemi reperfüzyon hasarında etkili olacağı düşüncesini doğurmuştur.

İskemi ve anoksi sonucunda yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin azalması, hücre içi serbest kalsiyum iyonunu artırmakta ve hücre fonksiyonlarını bozarak hücre zarının parçalanmasına yol açmaktadır. İskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesinde, hücre içine giren kalsiyumun engellenmesi, giren kalsiyumun bağlanması, serbest oksijen radikallerinin oluşumunun engellenmesi ve blokajı, nötrofillerin rolünün engellenmesi ve lipooksijenaz ve siklooksijenaz yolunun inhibe edilmesi gibi çeşitli yöntemler denenmiştir^[106]. Bu amaçla; karnitin, aminoguanidin, kalsiyum kanal blokerleri, immun süpresif ajanlar, PDE3 inhibitörleri, E vitamini gibi pek çok ilaç kullanılmıştır^[107,108,109].

Kalsiyum Dobesilatın iskemi reperfüzyon hasarına karşı ve diğer bazı olumlu etkilerine dair kalp, göz, akciğer, kas dokusu ve penis gibi organlarda birçok çalışma

yapılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Fakat profilaktik olarak uygulanan kalsiyum dobesilatın böbrekteki iskemi reperfüzyon hasarını önlemesi yönünde literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Kalsiyum Dobesilat birçok ülkede kronik venöz yetmezlik, diyabetik retinopati ve hemoroidal atakların semptomatik tedavisi olmak üzere 3 major endikasyon için kullanılan bir ilaç olup^[60], venotonik ve vaskülo protektor ilaçlar grubundadır^[61,62]. Kalsiyum dobesilatın mevcut farmakolojik etkileri ile böbrek iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu etkisi olabileceği düşünülmüş ve bu etkilerinden dolayı çalışmamızda yer almıştır.

Bu etkileri:

- 1- Özellikle küçük damarlarda olmak üzere vasküler protektif ve antioksidan özellikleri mevcuttur^[63,64]. Kalsiyum dobesilat kapiller damarlar üzerine selektif etki göstererek kapiller permeabiliteyi azaltır ve kapiller damarların direncini artırır. Reaktif oksijen türleri üzerinde temizleyici ve ROS oluşumunu azaltıcı özellikleri olup antioksidan kapasiteleri mevcuttur^[65,66]. Ayrıca makro ve mikrovasküler endotelial hücrelerde NOS aktivitesini artırır ve NO sentez ve salınımını etkileyerek kapiller endotelial hücre deskuamasyonunu azaltır^[67]. Bazal membranın bozulmuş kollagen biosentezini düzeltir. Kapiller damarlara bu etkileri sonucu çeşitli nedenlerle oluşan kapiller alan harabiyetini önler^[66,67,68].
- 2- Kan seviyesinde trombosit agregasyonu ve trombogenezi inhibe eder, kan hiperviskozitesini düşürür, eritrositlerin agregasyonunu ve rijiditesini azaltır. Bu etkileri sonucu kan stazı, vasküler tıkanıklık ve iskemiye önler^[70,71,72]. Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda kalsiyum dobesilatın kan ve plazma viskozitesindeki azalmaya ilaveten bazı biyolojik parametrelerde (fibrinojen, alfa1 ve alfa 2 globulinler) azalmaya neden olduğu gösterilmiştir^[73]. Bazı klinik çalışmalarda kalsiyum dobesilatın PMNL'leri apoptozisden koruyucu özellikleri olduğu, PMNL ve eritrositlerde antioksidan türlerinde artışa sebep oldukları gözlenmiştir^[66,74].
- 3- Lenfagog etkisi sonucu lenfödem azalttığı, intralenfatik basıncı düşürüp sıvı girişini artırdığı ve torasik seviyede lenfatik akımı azalttığı görülmüştür^[79,80,81,82,83].

4- Transkapiller sızıntıdan ve kapiller bazal membranın kalınlaşmasından sorumlu olan kollajenin non-çapraz bağlarını azaltır ve kapiller bazal membranın kollajen çapraz bağlarını destekler^[87].

Çeşitli organ ve dokularda kalsiyum dobesilatın bu etkilerini destekleyen birçok çalışma mevcuttur;

Cerrahoğlu ve ark.^[110] koroner arter bypass greft operasyonları esnasında oksidatif stresin azaltılmasına yönelik yaptıkları çalışmada kalsiyum dobesilat verilen grupta kardiyopulmoner bypass ve kardiyoplejik arrest boyunca malondialdehit üretiminin azaldığını ve endojen antioksidan kapasitenin korunduğunu öne sürmüşlerdir. Sonuçta kalsiyum dobesilatın koroner bypass operasyonu sonrası iskemi-reperfüzyona bağlı myokard hasarına olumlu etkilerinin olabileceğini bildirmişlerdir.

Cihan ve ark.^[111] 24 erişkin Wistar Albino rat ile yaptıkları çalışmada kalsiyum dobesilatın myokard iskemi reperfüzyon hasarındaki etkilerini araştırmışlar ve koroner arter ortalama basınç değişikliğinin kalsiyum dobesilat ile perfüze edilmiş grupta önemli ölçüde daha yüksek olduğunu görmüşler ve bu etkinin endotel kaynaklı vazodilatatör substans artışı ile açıklanabileceğini bildirmişlerdir.

İşkesen ve ark.^[112] açık kalp cerrahisi sırasında miyokard hasarının önlenmesine yönelik yaptıkları çalışmada iki grubu değerlendirmişler ve ilk gruba (n=12) operasyon öncesi 14 gün boyunca oral kalsiyum dobesilat vermişler, ikinci grup ise ilaç almayan grup olup kontrol grubu (n=12) olarak kabul edilmiştir. Çalışma sonunda kalsiyum dobesilat grubunda miyokard hasarının biyokimyasal belirteçleri olan serum CK, CK-MB, myoglobin ve troponin-T seviyeleri kontrol grubundan daha düşük gözlenmiştir. Ayrıca çapraz klempin çıkarılmasından 2 dakika sonra (reperfüzyon sonrası) alınan kan örneğindeki ölçülen laktat düzeyi de anlamlı olarak daha düşük gözlenmiştir. Sonuçta açık kalp cerrahisinde kardiyoplejik arrest döneminde miyokard hasarının azaltılması ve miyokardın korunması noktasında kalsiyum dobesilatın olumlu etkileri olduğunu belirtmişlerdir.

Köksal ve ark.^[113] alt ekstremiteye 4 saatlik iskemi ve 1 saatlik reperfüzyon uygulaması sonrası akciğerde meydana gelecek olan hasarın tedavisi için kalsiyum

dobesilat, N-acetylcysteine, aprotinin ve karşılaştırma içinde iyi bilinen bir antioksidan olan dimetil sülfoksit (DMSO) kullanmışlar ve tüm ilaç gruplarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında akciğer tiobarbiturik asit reaktif madde (plazma oksidan-antioksidan dengeyi değerlendirmek için lipid peroksidasyonunun bir göstergesi) değerleri önemli ölçüde daha düşük bulunmuştur. Ayrıca histolojik olarak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bütün ilaç gruplarında peribronşiyal lökostaz ve interstisyel lökostazın daha az göze çarptığı bildirilmiştir.

Rota ve ark.^[114] diyabetik ratlarda retinal albumin kaçağının azaltılması, in vivo antioksidan kapasite ve retinal vasküler endoteliyal büyüme faktörü (VEGF) aşırı salınımına yönelik yaptıkları çalışmada deneysel diyabet oluşturmak için streptozosin verilmesinden 20 gün sonra, ratlara 10 gün boyunca 100 mg/kg/gün dozda kalsiyum dobesilat uygulamışlar; sonuçta retinal albumin kaçağının %70, retinal VEGF ekspresyonunun %69.4 azalttığını bildirmişler ve kalsiyum dobesilatın in situ antioksidan işlevi ile diyabetik retinopatide kan-retina bariyerini stabilize ettiğini öne sürmüşlerdir.

Szabo ve ark.^[115] diyabetik ratların iskemi-reperfüzyonla indüklenmiş serbest oksijen radikali aracılı retina hasarını önlemede kalsiyum dobesilatın etkilerini araştırmışlardır. 10 Gün boyunca 50 ve 100 mg/kg/gün dozda kalsiyum dobesilatı oral yolla uygulamışlar ve özellikle 100 mg/kg/gün dozda kalsiyum dobesilatın hidroksil radikal yoğunluğunu, düzensiz iyon dağılımını ve retinal ödemi önemli ölçüde azalttığını bildirilmişlerdir.

Gao ve ark.^[116] streptozosinle indüklenmiş erken diyabetik nefropatide kalsiyum dobesilatın etkilerini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmışlar ve bu amaçla farklı dozlarda kalsiyum dobesilat kullanmışlardır. Sonuçta kalsiyum dobesilatın 24 saatlik idrar albumininde azalmaya, güçlü bir vazokonstriktör olduğu bilinen endotelinin böbrek korteksi ve plazmadaki seviyelerinde azalmaya, plazminojen aktivatör inhibitörü-1'in down regülasyonuna ve matriks metalloprotein-9'un up regülasyonuna neden olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca böbrek histopatoloji bulguları; kalsiyum dobesilatın damar endotelini koruduğunu,

böbrek fibroz dejenerasyonunu azalttığını, renal patolojik hasarı iyileştirdiğini ve böbrek fonksiyonlarını koruduğunu göstermiştir.

Dong ve ark.^[117] deneysel olarak diyabetik nefropati oluşturdıkları ratlara 12 hafta boyunca 100 mg/kg/gün kalsiyum dobesilat vermişler ve etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonunda kalsiyum dobesilatın tip IV kollajenin aşırı birikimini önleyerek diyabetik nefropatiyi iyileştirebileceği ve doku inhibitör metaloproteinaz 1 (TIMP1) ekspresyonunu inhibe ederek diyabete olumlu katkıda bulunabileceği sonucuna varılmıştır.

Liu ve ark.^[118] tip 2 diyabetik ratlardaki renal lezyonlar üzerine kalsiyum dobesilatın etkilerini ve etki mekanizmalarını araştırmak amacıyla diyabetik ratları rastgele kontrol grubu ve tedavi grubu olmak üzere 2 gruba ayırmışlardır. 24 Hafta sonra serum kreatinin (Scr), protein kinaz C (PKC), kreatin klirensi (Ccr), transforming growth faktör-beta (TGF-beta1) ve tip IV kollajen ve böbrek histopatolojileri gruplar arasında karşılaştırılmış ve tedavi grubunda Scr, PKC, TGF-beta1'in önemli ölçüde düşük olduğunu ve histopatolojik inceleme sonucu renal patolojik değişikliklerin olumlu yönde etkilendiğini göstermişlerdir. Kalsiyum dobesilatın böbrek üzerindeki bu yararlı etkilerini PKC ve TGF-beta1'i inhibe ederek gösterebileceğini belirtmişlerdir.

Hannaert ve ark.^[65] diyabetik ratlarda farklı dozlarda kalsiyum dobesilatın angiyoprotektif ve antioksidan özelliklerini araştırmak için periton boşluğunu, serbest radikal üretici ajan olan fenotiazin methosülfat ile uyarmış ve plasma Evans mavisinin ekstrevasiyonunu test etmişlerdir. Kalsiyum dobesilatın 50 ve 200 mg'lık oral tek dozları ile tedavi edilmiş diyabetik ratlarda ekstrevasiyon oranları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sırasıyla %60 ve %100 oranında düşmüştür. Kalsiyum dobesilatın 50 ve 100 mg/kg/gün ile 7 günlük tedavisi ile bu oran sırasıyla %56 ve %80 idi. Sonuç olarak, peroral kalsiyum dobesilat diyabetik ratların peritoneal boşluğundaki oksidatif stresle indüklenen kapiller permeabilitedeki artışı doza bağlı olarak büyük ölçüde engellemiştir.

Gine domuzlarında yapılan bir çalışmada ciltaltına lam implantasyonu ile inflamasyon oluşturulmuş ve sonrasında kalsiyum dobesilat verilerek antiinflamatuvar

etkisi araştırılmıştır. Sonuçta, kalsiyum dobesilatın muhtemelen makrofaj aktive edici faktörlerin etkinliğini bloke edip ve daha da muhtemel TGF beta 1 ve 2 gibi makrofaj deaktive edici faktörlerin daha hızlı üretimini stimüle edip; sirkülasyondaki monositlerin sayısında azalmaya neden olarak antiinflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir^[119].

Michal ve ark.^[77] 1988 yılında yayınlanmış yazılarında; kalsiyum dobesilatın, tavşan plateletlerinde trombin ve kollajenle uyarılmış platelet salgılarının salınımını ve agregasyonunu azalttığını, in vivo ve ex vivo olarak platelet cAMP düzeylerini artırdığını ve plateletler üzerine olan inhibitör etkilerini; siklik AMP yolağı aracılığı ile büyük olasılıkla da adenil siklazin aktivasyonu ile gösterdiğini bildirmişlerdir.

Sinzinger ve ark.^[120] kalsiyum dobesilatla tedavi gören periferel damar hastalığı olan hastalarda tedavi öncesi ve sonrası bazı platelet ve prostaglandin parametrelerindeki değişiklikleri incelemişlerdir. Çalışma sonunda dolaşımdaki endotel hücrelerinde azalma, serum tromboksan B2'de azalma, fibrinojen yarılanma ömründe kısalma, platelet yarılanma ömründe uzama, beta tromboglobulin seviyelerinde düşme olduğunu ve egzogen 14C-araşidonik asitlerin eikosanoidlere dönüşümünde hiçbir değişiklik olmadığı rapor etmişlerdir.

Böbreklerde deneysel iskemi-reperfüzyon hasarının etkilerinin ortaya çıkması için belli bir iskemi süresine gerek vardır. Rat böbreğinde yapılan çalışmaların bazılarında 45 dakikalık, bazılarında ise 60 dakikalık iskemi süresinden sonra reperfüzyon hasarının ortaya çıktığı gözlenmiştir. Bu çalışmada 45 dakikalık renal iskemi süresi literatüre uygun şekilde tercih edilmiştir. Literatürde, renal iskemi reperfüzyon hasarının, doku örneği ve serum analiz çalışmaları ile en erken 4 saatte ortaya çıktığı, tepe noktasına da 24 saatte ulaştığı rapor edilmiştir^[37]. Bu çalışmada da renal iskemi reperfüzyon hasarının etkilerini net olarak araştırmak istediğimiz için 24 saatlik reperfüzyondan sonra diğer işlemlere geçildi.

Dobashi ve ark. böbrekte iskemi (30, 60, 90 dk) ve reperfüzyonu (2, 24, 72, 120 saat) farklı sürelerde yaptıkları çalışmada; 60 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uyguladıkları grupta, SOD ve GPx aktivitelerinde anlamlı azalma ve lipid peroksidasyon düzeyinde artma olduğu bildirilmiştir^[121,122]. Ayrıca böbreklerde

iskemi ve reperfüzyonun farklı sürelerinde yapıldığı çalışmalarda; glutatyon düzeyinin azaldığı, lipit peroksidasyon ve plazma üre ve kreatinin düzeylerinin arttığı bildirilmiştir. Bulgularımız daha önce yapılan çalışmaların sonuçları ile bazı yönleri ile uyumluluk göstermektedir^[122].

Çalışmamızda; 45 dk iskemi(I) ve 24 saat reperfüzyon(R) uygulayarak oluşturduğumuz modelde, I/R+ Kalsiyum dobesilat (Tedavi grubu=grup III) grubunda, I/R grubuna (Kontrol grubu=Grup II) göre böbrek glomerüler fonksiyon bozukluğunun bir göstergesi olan plazma üre ve kreatinin seviyelerinin anlamlı olarak daha düşük olduğu gözlemlendi. Serum kreatinin değerleri istatistiksel olarak anlamlı çıkarken($p=0.005$), üre değerleri istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.326$). Fakat parametrelerin ortanca değerlerine bakıldığında anlamlı derecede düşüktü.

Antioksidan enzim aktivitesinin düşük olması iskemi-reperfüzyon hasarının daha az olacağının bir göstergesidir. Çalışmamızda enzim aktiviteleri kontrol grubunda (grupII) en yüksek seviyedeydi. Bunun sebebi ise diğer gruplarla karşılaştırıldığında iskemik hasara en fazla maruz kalan grup olmasından dolayıdır. Tedavi grubunda ise Kontrol grubundan düşük, Sham grubundan ise bir miktar yüksek gözlemlendi. Bunun sonucu olarak; tedavi grubunun iskemi reperfüzyon hasarına kontrol grubundan daha az maruz kaldığı yorumu yapılabilir.

Yapılan çalışmalar gözden geçirildiğinde renal iskemi reperfüzyon hasarı için kullanılan bir net bir doz değeri yoktu. Diğer organlar üzerine yapılan çalışmalardan yola çıkılarak ortalama bir doz değeri çalışmamızda kullanılmıştır. Veri sayısının az olması, tedavi için belirtilen dozun miktarı ve ne kadar kullanılacağının net olmaması gibi nedenler, eritrosit antioksidan enzim aktivite değerleri ve plazma üre değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı çıkmamasının bir nedeni olarak görülebilir.

Histopatolojik olarak; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tedavi grubunda, hücre nekrozu haricindeki iskemik değişiklik parametrelerinin anlamlı derecede daha az olduğu gözlemlendi ve istatistiksel olarak da anlamlıydı (tübüler epitelyal hücre düzleşmesi: $p<0.001$, sitoplazmik vakuolizasyon: $p=0,041$, tübüler lümen obstrüksiyonu: $p=0,001$, kronik inflamasyon: $p<0.001$ ve hücre nekrozu: $p=0,283$)

Kalsiyum dobesilatın etkinliğini diğer dokularda araştıran ve anlamlı sonuçlar elde edilen birçok çalışmayla bazı bulgularımız uyumluydu.

Kalsiyum Dobesilatın iskemi reperfüzyon hasarını azaltıcı veya engelleyici etkisi özellikle kalp ve göz bibi organlarda yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Fakat literatür gözden geçirildiğinde renal iskemi reperfüzyon hasarını engellemesi üzerine çalışmalar mevcut değildir. Bizim çalışmamızda; diğer bazı organlar üzerine iskemi reperfüzyon hasarını engellediği veya azalttığı gösterilen kalsiyum dobesilatın; profilaktik olarak kullanımının renal iskemi reperfüzyon hasarını önlemede etkili olduğu görülmüştür.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İskemi ve reperfüzyonla meydana gelen akut renal yetmezlik; glomerüler filtrasyon oranında büyük azalmalar, yaygın tübüler hasar, tübülüs hücre nekrozları, hyalin debrislerle oluşan tübüler obstruksiyonla karakterize klinik ve deneysel bir sendromdur. Klinikte transplantasyon, travma, anatrofik nefrolitotomi, nefron koruyucu cerrahi ve renal arter cerrahisi; iskemi ve onu takip eden reperfüzyonun oluşturduğu hasara iyi birer örnek oluşturmaktadırlar. Bu çalışmada renal iskemi-reperfüzyon hasarında etkili ve öncesinde uygulanabilecek bir tedavi yöntemi araştırılmıştır.

Histopatolojik ve biyokimyasal olarak yapmış olduğumuz bu çalışmada;

1. Her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasada tedavi grubunda, endojen antioksidanlar olan SOD ve GPx düzeyleri, sadece iskemi-reperfüzyon yapılan gruptan daha düşük bulunmuştur. Bu da tedavi grubunda hasarın daha az olduğunun bir göstergesi olabilir.
2. Tedavi grubunda plazma kreatinin düzeyi istatistiksel olarak anlamlı, üre düzeyi ise istatistiksel olarak anlamsız olsa da iskemi-reperfüzyon grubuna göre daha düşük gözlenmiştir. Bu da kalsiyum dobesilatın renal fonksiyonları iyileştirebileceği şeklinde yorumlanabilir.
3. Histopatolojik inceleme sonucunda akut renal yetmezlik bulgularından hücre nekrozu hariç diğer parametrelerin tedavi grubunda, iskemi-reperfüzyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Literatürde henüz böbrek iskemi-reperfüzyon hasarında proflaktik kalsiyum dobesilat kullanımı ile ilgili bir yayın yoksa da, çalışmamızdaki sonuçlar bize; böbrekte iskemi-reperfüzyona bağlı oluşabilecek hasarın azaltılması için proflaktik kalsiyum dobesilatın kullanılabileceğini işaret etmektedir. Çalışmamızda elde edilen sonuçların desteklenmesi için farklı doz ve sürelerde yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. **Redman JF:** Anatomy of genitouriner system. in: Adult and pediatric urology. St. Louis: Mosby Year Book Inc. 1991; 1-631.
2. **Hinman FJ:** Development of the kidney, ureter and adrenal gland. In: Atlas of urosurgical anatomy. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996; 235-254
3. **Tisher CC, Madsen KM:** Anatomy of the kidney. In: The Kidney. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996; 3-72
4. **Guyton AC:** The kidneys and body fluids. In: Textbook of Medical Physiology. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1991; 273-353
5. **Lance DD, Brenner BM:** The renal circulation in: The Kidney. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996; 247-286
6. **Navar LG, Carmines PK, Mitchell KD:** Renal circulation in: Text book of nephrology. Baltimore: Wiliams&Wilkins, 1995; 41-54
7. **Madox DA, Brenner BM:** Glomeruler ultrafiltration. in: The Kidney. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996; 286-334.
8. **Kon V:** Text book of nephrology: Glomeruler filtration. Baltimore: Wiliams&Wilkins, 1995: 54-60.
9. **Navar LG:** Renal autoregulation: Perspectives from whole kidney and single nephron studies. Am J Physiol Renal Physiol 1978; 234: 357-370
10. **Braam B, Mitchell KD, Koomans HA, Navar LG:** Relevance of the tubuloglomeruler feedback mechanism in pathophysiology. J Am Soc Nephrol 1993; 4: 1257-1274
11. **Bulger RE, Dobyan DC:** Recent advances in renal morphology. Annu Rev Physiol. 1982; 44: 147-179
12. **Luiz CJ, Jose C, Robert OK:** Ürogenital Sistem Histolojisi. Temel Histoloji: 8. Baskı İstanbul: Nobel, 1998:359-375
13. **Maunsbach AB, Olsen TS, Christensen EL:** Functional Ultrastructure of the Kidney. London: Acedemic Pres, 1980: 443-457
14. **Ganong WF:** Formation and excretion of urine. In: Review of Medical Physiology. 15th ed.. Norwalk: Appleton and Lange, 1989
15. **Tisher CC:** Structure and Function of Kidneys: Cecil Textbook of Medicine. 20th ed.. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2000; 532-539
16. **Cotran RS, Kumar V, Robbins SL:** Robbins pathologic basis of disease. 4th ed.. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1995; 3-12
17. **Arima S, Ren Y, Juncos LA, Carretero OA, Ito S:** Glomeruler prostaglandins

- modulate vascular reactivity of downstream efferent arterioles. *Kidney Int* 1994; 45(3): 650-658
18. **McDougal WS:** The diagnosis, management, and pathophysiology of acute renal failure in surgical patients. 1985; A.U.A. Update Series, vol. IV: lesson 7
 19. **Chien KR, Abrams J, Serroni A, Martin JT, Farber JL:** Accelerated phospholipid degradation and associated membrane dysfunction in irreversible, ischemic liver cell injury. *J Biol Chem* 1978; 253(13): 4809-4817
 20. **Aydıntuğ S, Akata O:** İskemi-Reperfüzyon Hasarı. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 1990; 10(3): 228-232
 21. **Grace PA:** Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994; 81(5): 637-647
 22. **Jacob RA, Burri BJ:** Oxidative damage and defense. *Am J Clin Nutr* 1996; 63(6): 985-990
 23. **Heinzelmann M, Mercer-Jones MA, Passmore JC:** Neutrophils and renal failure. *Am J Kidney Dis* 1999; 34(2): 384-399
 24. **Hellberg PO, Källskog TO:** Neutrophil-mediated post ischemic tubular leakage in the rat kidney. *Kidney Int* 1989; 36(4): 555-561
 25. **Yagi K:** Assay of blood plasma or serum methods in enzymology. *Methods Enzymol* 1984; 105: 328-331
 26. **Kawada T, Ueda S, Watanabe Y, et al:** Protective effect of alpha tocopherol on Ca^{2+} regulation by microsomal fractions isolated from preserved rat livers. *Transplant Proc* 1989; 21(1Pt2): 1301-1302
 27. **Mora NP, Cienfuegos JA, Pereira F, et al:** Value of prostacyclin plus verapamil for obtaining 24-hour preserved liver allografts. *Transplant Proc* 1988; 20(5): 980-982
 28. **Umeshita K, Monden M, Ukei T, et al:** Different cytoprotective effects of calcium blockers in hypothermic liver preservation. *Transplant Proc* 1989; 21(1Pt2): 1290-1291
 29. **Shires GT, Cunningham JN, Backer CR; et al:** Alterations in cellular membrane function during hemorrhagic shock in primates. *Ann Surg* 1972; 176(3): 288-295
 30. **Farber JL:** The role of calcium in cell death. *Life Sci* 1981; 29(13): 1289-1295
 31. **Fleckenstein A:** Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1977; 17: 149-166
 32. **Hinnen R, Miyamoto H, Racker E:** Ca^{2+} translocation in Ehrlich ascites tumor cells. *J Membr Biol* 1979; 49(4): 309-324
 33. **Humes HD:** Role of calcium in pathogenesis of acute renal failure. *Am J Physiol*

- Renal Physiol 1986; 250: 579-589
34. **Dunn MJ:** Renal prostaglandins, in Renal Endocrinology. Baltimore: The Williams & Wilkins. 1983; 1-74
 35. **Yin HL, Stossel TP:** Control of cytoplasmic action gel-sol transformation by gelsolin, a calcium-dependent regulatory protein. Nature 1979; 281(5732): 583-586
 36. **Dedman JR, Brinkley BR, Means AR:** Regulation of microfilaments and microtubules by calcium and cyclic AMP. Adv Cyclic Nucleotide Res 1979; 11: 131-174
 37. **Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF:** Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. J Clin Invest 1984; 74(4): 1156-1164
 38. **Arnold PE, Lumlertgul D, Burke TJ, Schrier RW:** In vitro versus in vivo mitochondrial calcium loading in ischemic acute renal failure. Am J Physiol 1985; 248(6Pt2): 845-850
 39. **Reilly PM, Schiller HJ, Bulkey GB:** Pharmacological approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. Am J Surg 1991; 161(4): 488-502
 40. **Fehér J, Csomos G, Vereckei A:** Free Radical Reactions in Medicine. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 1987; 2-10
 41. **Aybey B, Tufan H, Ergenekon G:** Serbest radikaller. Türkderm. 1996; 30: 116- 122
 42. **Erenel G, Erbaş D, Arıcıoğlu A:** Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. Gazi Tıp Dergisi 1992; 3: 243-250
 43. **Akkuş İ:** Serbest Radikaller ve Fiziopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları, 1995; 93-95
 44. **Halliwell B, Gutteridge JM:** Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. Lancet 1984; 1(8391): 1396-1397
 45. **Younes M, Siegers CP:** Interrelation between lipid peroxidation and other hepatotoxic events. Biochem Pharmacol 1984; 33(13): 2001-2003
 46. **Maier CM, Chan PH:** Role of superoxide dismutases in oxidative damage and neurodegenerative disorders. Neuroscientist 2002; 8(4): 323-334
 47. **Yamaguchi T, Oishi K, Uchida M, Echizen H:** Edaravone, a radical scavenger, may enhance or produce antiproliferative effects of fluvastatin, amlodipine, ozagrel, GF109203X and Y27632 on cultured basilar artery smooth muscle cells. Biol Pharm Bull 2003; 26(12): 1706-1710
 48. **Fernandez N, Martinez MA, Climent B, et al:** In vivo coronary effects of endothelin-1 after ischemia-reperfusion. Role of nitric oxide and prostanoids. Eur J

Pharmacol 2003; 481(1): 109–117

49. **Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA:** Ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 2002; 105(2): 248-258
50. **Guo JP, Murohara T, Buerke M, Scalia R, Lefer AM:** Direct measurement of nitric oxide release from vascular endothelial cells. *J Appl Physiol* 1996; 81(2): 774-779
51. **Lefer AM, Lefer DJ:** The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion. *Cardiovasc Res* 1996; 32(4): 743-751
52. **Yin DP, Sankary HN, Chong AS, et al:** Protective effect of ischemic preconditioning on liver preservation-reperfusion injury in rats. *Transplantation* 1998; 66(2): 152-157
53. **Murry CE, Jennings RB, Reimer KA:** Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74(5): 1124-1136
54. **Glazier SS, O'Rourke DM, Graham DI, Welsh FA:** Induction of ischemic tolerance following brief focal ischemia in rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994; 14(4): 545-553
55. **Alvarez-Lopez A, de Hemptine B, Hoebeke Y, Lambotte L:** Prostaglandin E2 increases the tolerance of the rat liver to warm ischemia in absence of splanchnic congestion. *Transplant Proc* 1987; 19(5): 4105-4109
56. **Chiu C, Toledo-Pereyra LH:** Effect of catalase and/or allopurinol, or N-t-butyl-alpha -phenylnitrone on hepatic ischemia. *Transplant Proc* 1987; 19(1 Pt 2): 1077-1079
57. **Klausner JM, Paterson IS, Kobzik L, et al:** Vasodilating prostalandins attenuate ischemic renal injury only if thromboxane is inhibited. *Ann surg* 1989; 209(2): 219-224
58. **Marubayashi S, Dohi K, Ochi K, Kawasaki T:** Protective effects of free radical scavenger and antioxidant administration on ischemic liver cell injury. *Transplant Proc* 1987; 19(1 Pt 2): 1327-1328
59. **Marubayashi S, Dohi K, Sumimoto K, et al:** Changes in activity of oxygen free radical scavengers and in levels of endogenous antioxidants during hepatic ischemia and subsequent reperfusion. *Transplant Proc* 1989; 21(1 Pt 2): 1317-1318
60. **Allain H, Ramelet AA, Polard E, Bentué-Ferrer D:** Safety of calcium dobesilate in chronic venous disease, diabetic retinopathy and haemorrhoids. *Drug Saf* 2004; 27(9): 649-660
61. **Dominique D, Pauline G, Stéphane KM, Yves P:** Le Dictionnaire Vidal: 81st ed..

Paris; Vidal, 2003

62. **Priollet P, Boisseau MR:** Drugs for veno-lymphatic insufficiency. *Rev Prat* 2000; 50(11): 1195-1198
63. **Leite EB, Mota MC, de Abreu JR, Cunha-Vaz JG:** Effect of calcium dobesilate on the blood-retinal barrier in early diabetic retinopathy. *Int Ophthalmol* 1990; 14(2) :81-88
64. **Vojnikovic B:** Doxium (calcium dobesilate) reduces blood hyperviscosity and lowers elevated intraocular pressure in patients with diabetic retinopathy and glaucoma. *Ophthalmic Res* 1991; 23(1): 12-20
65. **Hannaert P, Brunet J, Farine JC, Garay RP:** Antioxidant-Angioprotective Actions of Calcium Dobesilate in Diabetic Rats. *Int J Angiol* 1999; 8(5): 2-4
66. **Brunet J, Farine JC, Garay RP, Hannaert P:** In vitro antioxidant properties of calcium dobesilate. *Fundam Clin Pharmacol* 1998; 12(2): 205-212
67. **Sushek C, Kolb H, Kolb-Bachofen V:** Dobesilate enhances endothelial nitric oxide synthase-activity in macro- and microvascular endothelial cells. *Br J Pharmacol* 1997; 122(7): 1502-1508
68. **Ruiz E, Lorente R, Tejerina T:** Effects of calcium dobesilate on the synthesis of endothelium-dependent relaxing factors in rabbit isolated aorta. *Br J Pharmacol* 1997; 121(4): 711-716
69. **Hladovec J:** Vasotropic drugs--a survey based on a unifying concept of their mechanism of action. *Arzneimittelforschung* 1977; 27(5): 1073-1076
70. **Falkay G, Kovács L:** Calcium dobesilate (Doxium) as a prostaglandin synthetase inhibitor in pregnant human myometrium in vitro. *Experientia* 1984; 40(2): 190-191
71. **McMillan DE, Utterback NG, Wujek JJ:** Effect of anionic amphophiles on erythrocyte properties. *Ann N Y Acad Sci* 1983; 416: 633-641
72. **Ernst E, Marshall M:** Improvement of reduced erythrocyte flexibility through calcium dobesilate. Results of a pilot study. *MMW Munch Med Wochenschr* 1984; 126(5): 125-126
73. **Barras JP, Graf C:** Hyperviscosity in diabetic retinopathy treated with Doxium (calcium dobesilate). *Vasa* 1980; 9(2): 161-164
74. **Graber R, Farine JC, Losa GA:** Calcium Dobesilate protects human peripheral blood mononuclear cells from oxidation and apoptosis. *Apoptosis* 1998; 3(1): 41-49
75. **Cörtelekoğlu T, Bozkurt AK, Ustundag N, Koksai C, Sayin AG:** The effects of clopidogrel and calcium dobesilate on intimal hyperplasia following vascular injury. *Acta Chir Belg* 2006; 106(2): 206-210

76. **Gloviczki P, Fowl RJ, Hollier LH, et al:** Prevention of platelet deposition by ibuprofen and calcium dobesilate in expanded polytetrafluoroethylene vascular grafts. *Am J Surg* 1985; 150(5): 589-592
77. **Michal M, Gotti C:** Effect of calcium dobesilate on platelet function. *Thromb Res* 1988; 51(6): 593-605
78. **Michal M, Giessinger N:** Effect of calcium dobesilate and its interaction with aspirin on thrombus formation in vivo. *Thromb Res* 1985; 40(2): 215-226
79. **Casley-Smith JR, Casley-Smith JR:** The effects of calcium dobesilate on acute lymphedema (with and without macrophages), and on burn edema. *Lymphology* 1985; 18(1): 37-45
80. **Casley-Smith JR:** The influence of tissue hydrostatic pressure and protein concentration on fluid and protein uptake by diaphragmatic initial lymphatics; effect of calcium dobesilate. *Microcirc Endothelium Lymphatics* 1985; 2(4): 385-415
81. **Piller NB:** The lymphagogue action of calcium dobesilate on the flow of lymph from the thoracic duct of anesthetized and mobile guinea pigs. *Lymphology* 1988; 21(2): 124-127
82. **Szlavy L, Repa I, Szabo Z, de Courten A, Hachen HJ:** Salvage of ischemic myocardium by CLS 2210 in the dog: a preliminary double-blind study. *Angiology* 1987;38(1 Pt 2): 85-91
83. **Repa I, Garnic JD, Hollenberg NK:** Myocardial infarction treated with two lymphagogues, calcium dobesilate (CLS 2210) and hyaluronidase: a coded, placebo-controlled animal study. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990; 16(2): 286-291
84. **Huttl K, Hollenberg NK:** Effect of CLS 2210 (calcium dobesilate) on survival and myocardial infarction size in the rat: influence of dose and duration of treatment. *Cardiology* 1992; 80(1): 28-33
85. **Szlavy L, Repa I, Lengye I, Lamboy L:** Effects of intravenous streptokinase and CLS 2210 (calcium dobesilate) on the biochemical markers of early acute myocardial infarction: a historic comparison with both studies. *Angiology* 1992; 43(9): 741-747
86. **Szlavy L, Repa I, Lengyel I, Lamboy L:** Calcium dobesilate (CLS 2210) protects the myocardium in early acute myocardial infarction: a preliminary randomized, double-blind, placebo-controlled study of its effects on biochemical markers. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990; 15(1): 89-95
87. **Hasslacher C, Kopischke HG, Burklin E:** Inhibition of increased capillary basement membrane synthesis in diabetic rats. *Vasa* 1981; 10(2): 148-150

88. **Vojnikovic B:** Hyperviscosity in whole blood, plasma, and aqueous humor decreased by doxium (calcium dobesilate) in diabetics with retinopathy and glaucoma: a double-blind controlled study. *Ophthalmic Res* 1984; 16(3): 150-162
89. **Ibáñez L, Ballarín E, Vidal X, Laporte JR:** Agranulocytosis associated with calcium dobesilate clinical course and risk estimation with the case-control and the case-population approaches. *Eur J Clin Pharmacol* 2000; 56(9-10): 763-767
90. **Galindo Bonilla PA, García Rodríguez R, Feo Brito F, et al:** Drug fever attributable to Calcium Dobesilate. *Allergol Immunopathol (Madr)* 1996; 24(1): 19-21
91. **Puyana J, Fraj J, De La Hoz F, et al:** Drug-induced fever: a clinical report and challenge test with calcium dobesilate. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1990; 92(4): 364-365
92. **Krayenbühl JC, Oestreicher MK, Sievering J, Stoller R, Dayer P:** Retrospective study of drug-induced agranulocytosis in hospitalized patients in Geneva and comparison with cases reported to IOCM *Schweiz Med Wochenschr* 1998; 128(6): 199-202
93. **Doğru K:** Deneysel araştırmalarda anestezi ve ötanazi. http://tip.erciyes.edu.tr/Ders_Notlari/Cerrahi_Tip/Anesteziyoloji/Kudret_Dogru/anestezi.pdf Erişim: 6 Temmuz 2010
94. **Suttle NF:** Copper Deficiency in Ruminants; Recent Developments. *Vet Rec* 1986; 119(21): 519-522
95. **Paglia DE ve Valentine WN:** Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70(1): 158-169
96. **Hillegass LM, Griswold DE, Brickson B, Albrightson-Winslow C:** Assessment of myeloperoxidase activity in whole rat kidney. *J Pharmacol Methods* 1990; 24(4): 285-295
97. **Karasawa A, Kubo K:** Protection by benidipine hydrochloride (KW-3049), a calcium antagonist of ischemic kidney in rats via inhibitions of Ca-overload, ATP-decline and lipid peroxidation. *Jpn J Pharmacol* 1990; 52(4): 553-562
98. **Laight DW, Lad N, Woodward B, Waterfall JF:** Assessment of myeloperoxidase activity in renal tissue after ischemia/reperfusion. *Eur J Pharmacol* 1994; 292(1): 81-88
99. **Williams P, Lopez H, Britt D, et al:** Characterization of renal ischemia-reperfusion injury in rats. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1997; 37(1): 1-7
100. **Zager RA, Jurkowitz MS, Merola AJ:** Response of the normal rat kidney to sequential ischemic events. *Am J Physiol* 1985; 249: 148-159
101. **Bulkey GB:** Free radical mediated reperfusion injury. A selective review. *Br J*

- Cancer Supple 1987; 8: 66-73
102. **Mc Cord JM:** Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312(3): 159-163
 103. **Andreoli SP:** Reactive oxygen molecules, oxidant injury and renal disease. *Pediatr Nephrol* 1991; 5(6): 733-742
 104. **Baud L, Ardaillaou R:** Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *British Med Bulletin* 1993; 49: 621-630
 105. **Greene EL, Paller MS:** Oxygen free radicals in acute renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 1991; 17(2): 124-132
 106. **Klausner JM, Paterson M, Goldman S, et al:** Postischemic renal injury is mediated by neutrophils and leukotrienes. *Am J Physiol* 1989; 256: 794-802
 107. **Ergan O, Ulman C, Kilialp AS, Ulman İ:** Carnitin as a preventive agent in experimental renal ischemia-reperfusion injury. *Urol Res* 2001; 29(3): 186-189
 108. **Sahna E, Parlakpınar H, Cihan ÖF, Turkoz Y, Acet A:** Effect of aminoguanidine against renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Cell Biochem Funct* 2006; 24(2): 137-141
 109. **Romero F, Rodríguez-Iturbe B, Parra G, et al:** Mycophenolate mofetil prevents the progressive renal failure induced by 5/6 renal ablation in rats. *Kidney Int* 1999; 55: 945-955
 110. **Cerrahoğlu M, Taner KA, İşkesen İ, Onur E, Şirin H:** Calcium dobesilate reduces oxidative stress in cardiac surgery. *J Cardiovasc Surg* 2009; 50(5): 695-701
 111. **Cihan Öİ, Arslan C, Cantürk E, Süzer O:** The effects of calcium dobesilate on the mechanical function of rat hearts. *J Cardiovasc Surg* 2009; 50(3): 395-401
 112. **İşkesen İ, Saribülbül O, Cerrahoğlu M, et al:** Cardioprotective effect of calcium dobesilate during open-heart surgery. *Acta Cardiol* 2006; 61(1): 69-74
 113. **Köksal C, Bozkurt AK, Üstündag N, et al:** Attenuation of acute lung injury following lower extremity limb ischemia/reperfusion: the pharmacological approach. *J Cardiovasc Surg* 2006; 47(4): 445-449
 114. **Rota R, Chiavaroli C, Garay RP, Hannaert P:** Reduction of retinal albumin leakage caused by the antioxidant calcium dobesilate in streptozotocin-diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 2004; 495(2-3): 217-224
 115. **Szabo ME, Haines D, Garay E, et al:** Antioxidant properties of calcium dobesilate in ischemic/reperfused diabetic rat retina. *Eur J Pharmacol* 2001; 428(2): 277-286
 116. **Gao MJ, Liu M, Li B, et al:** Protective effect of calcium dobesilate against early diabetic nephropathy of rat kidney. *Yao Xue Xue Bao* 2009; 44(2): 126-133

117. **Dong J, Liu X, Liu S, et al:** Effects of calcium dobesilate on glomerulus TIMP1 and collagen IV of diabetic rats. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2005; 25(4): 416-418, 426
118. **Liu X, Liu X:** Effect of calcium dobesilate on nephropathy in type 2 diabetic rats. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2005; 25(1): 36-38
119. **Piller NB:** Assessment of the anti-inflammatory action of calcium dobesilate. Effect on macrophages attaching to subcutaneously implanted coverslips in guinea pigs. *Arzneimittelforschung* 1990; 40(6): 698-700
120. **Sinzinger H, Rauscha F, Vinazzer H:** Platelet function and prostaglandins in patients with peripheral vascular disease treated with calcium dobesilate. *Prostaglandins Leukot Med* 1987; 29(1): 1-9
121. **Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, Singh I, Singh AK:** Kidney ischemia-reperfusion: Modulation of antioxidant defenses. *Mol Cell Biochem* 2000; 205(1-2): 1-11
122. **Conesa LE, Valero F, Nadal JC, et al:** N-acetyl-L-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. *Am J Physiol* 2001; 281(3): 730-737