



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



Yüksek Lisans Tezi

**SIÇANLARDA AKUT NORMOVLEMİK ve HİPERVOLEMİK
HEMODİLÜSYONUN ETKİLERİ**

Muzaffer Utku ÇAKIR

Biyoloji Anabilim Dalı

Zooloji Programı

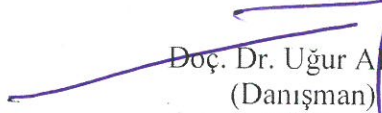
**DANIŞMAN
Doç. Dr. Uğur AKSU**

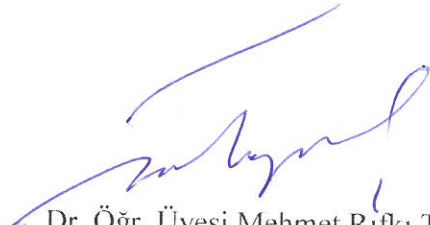
Haziran, 2019

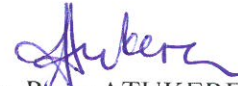
İSTANBUL

Bu çalışma, 12.06.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Zooloji Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi


Doç. Dr. Uğur AKSU
(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi


Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Rifkı TOPÇUL
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi


Prof. Dr. Pınar ATUKEREN
İstanbul Üniversitesi Cerrahpařa
Tıp Fakültesi



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 27510 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Sıvı statüsü bilinmeyen cerrahi ve yoğun bakım hastalarına yapılan sıvı uygulamaları iki farklı hemodilüsyon tipini oluşturur. Akut normovolemik hemodilüsyonda sadece aneminin etkisi görülürken, akut hipervolemik hemodilüsyonda aneminin yanında vasküler sistemin gerilmesi de sürece katılır. Çalışmamızda normovolemik ve hipervolemik hemodilüsyonun böbrek üzerindeki ve sistemik etkileri bir sıçan modelinde anlaşılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla kan hematokrit değeri %25 olacak şekilde kolloid (%6 Hidroksi etil nişasta) uygulanarak hayvanlarda normovolemik ve hipervolemik hemodilüsyon oluşturulmuştur. Hazırlanan modellerde ortaya çıkan stresin doğurduğu fizyolojik sonuçlar incelenmiştir.

Tez çalışmamda planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Uğur AKSU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yine çalışmamda uygulama ve diğer bir çok açıdan bana sürekli yardımda bulunarak yol gösteren ve gelecekteki hayatında çok daha başarılı olacağına inandığım kıymetli Uzm. Kübra VARDAR ve Uzm. Gülsüm KARDUZ arkadaşlarıma da sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince destekleri ve sevgileriyle her zaman yanımda olan babam Adnan ÇAKIR ve annem Zehra ÇAKIR'a çok teşekkür ediyorum.

Haziran 2019

Muzaffer Utku ÇAKIR

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	viii
ÖZET	x
SUMMARY	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR.....	3
2.1. SIVI UYGULAMALARININ TARİHİ.....	3
2.2. SIVI TİPLERİ	4
2.2.1. Kristaloidler	5
2.2.2. Kolloidler.....	6
2.3. HEMODİLÜSYON VE ANEMİ	8
2.4. ATRİYAL NATRİÜRETİK PEPTİT (ANP).....	9
2.5. GLİKOKALİKS VE ANP-GLİKOKALİKS HASARI.....	10
2.6. REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ (ROS) VE ANP-GLİKOKALİKS HATTI.....	13
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	16
3.1. DENEY HAYVANLARININ GENEL ÖZELLİKLERİ.....	16
3.2. CERRAHİ PROTOKOL	16
3.3. HEMODİLÜSYON MODELLERİ	16
3.3.1. Akut Normovolemik Hemodilüsyon	16
3.3.2. Akut Hipervolemik Hemodilüsyon	16
3.3.3. Gruplar.....	17
3.4. HEMODİNAMİK ÖLÇÜMLER	17
3.5. HOMOJENİZASYON	17
3.6. BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER.....	18
3.6.1. Total Protein Tayini.....	18
3.6.2. Serum Keratinin, Üre, Laktat, BUN Tayini	18
3.6.3. Serbest Hemoglobin Tayini	18
3.6.4. Sialik Asit Tayini.....	18

3.6.5. Malondialdehit (MDA) Tayini	19
3.6.6. İskemi Modifiye Albumin (IMA) Tayini	20
3.6.7. ELISA Yöntemi Kullanılarak Yapılan Ölçümler	20
3.6.8. Islak/Kuru Ağırlık Ölçümleri	20
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	20
4. BULGULAR.....	22
4.1. UYGULANAN SIVI HACMİ BULGULARI.....	22
4.2. SİSTEMİK HEMODİNAMİK VE HEMATOKRİT BULGULARI.....	22
4.3. BİYOKİMYASAL BULGULAR	23
4.3.1. Rutin Biyokimya Bulguları	23
4.3.2. Oksidatif Stres ve İnflamasyon ile İlgili Bulgular.....	25
4.3.3. Glikokaliks Bütünlüğü ile İlgili Bulgular.....	29
4.3.4. Katekolaminler ve ANP ile İlgili Bulgular.....	30
4.3.5. Böbrek Islak/Kuru Ağırlık Bulguları.....	32
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	34
KAYNAKLAR.....	41
ÖZGEÇMİŞ	49

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 4.1: Hemodilüsyon modelini oluşturmak üzere kullanılan toplam sıvı hacimleri (**p<0,01).....	22
Şekil 4.2: Tüm zaman noktalarında gruplara ait ortalama arteriyel basınç (A) , nabız (B), nabız basıncı (C), hematokrit (D) düzeyleri (*p<0,05,**p<0,01 ve ***p<0,001)	23
Şekil 4.3: T0 ve T2 Zaman noktalarında grupların serum laktat (A) , BUN (B) , üre (C) ve kreatinin (D) düzeyleri (**p<0,01, ve ***p<0,001)	25
Şekil 4.4: T0 ve T2 zaman noktalarına göre serum (A) ve böbrek dokusunda MDA (B) düzeyleri (*p<0,05)	26
Şekil 4.5: T0 ve T2 zaman noktalarında serum IMA düzeyleri (*p<0,05)	27
Şekil 4.6: T0 ve T2 zaman noktalarında serbest hemoglobin düzeyleri (*p<0,05)	28
Şekil 4.7: T0 ve T2 zaman noktalarında serum (A) ve böbrek dokusunda (B) TNF- α düzeyleri (**p<0,01)	29
Şekil 4.8: T0 ve T2 zaman noktasında grupların serum (A,C) ve böbrek dokusunda (B,D) sialik asit ve sindekan düzeyleri.(*p<0,05).....	30
Şekil 4.9: T0 ve T2 zaman noktalarına göre serum (A,C,E) ve böbrek dokusunda (B,D,F) epinefrin, norepinefrin ve ANP düzeyleri (*p<0,05, **p<0,01 ve ***p<0,001)	32
Şekil 4.10: Gruplar arası böbrek ıslak/kuru ağırlık karşılaştırması.....	33

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler Açıklama

A	: Absorbans
c	: Maddenin konsantrasyonu
ϵ	: Ekstinksiyon kat sayısı
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat derece

Kısaltmalar Açıklama

ADH	: Antidiüretik hormon
AHH	: Akut hipervolemik hemodilüsyon
ANH	: Akut normovolemik hemodilüsyon
ANP	: Atrial natriüretik peptit
BNP	: Beyin natriüretik peptidi
BUN	: Kan üre nitrojeni
CNP	: C-tipi natriüretik peptit
CoCl_2	: Kobalt klorür
CPC	: Kalp kası öncül hücreleri
DB	: Diyastolik basınç
dL	: Desilitre
DO_2	: Dokulara dakikada verilen oksijen toplam miktarı
DTT	: Ditiyotreitöl
ELISA	: Enzim bağlı immünosorbent deneyi
g	: Gram
GAG	: Glikozaminoglikan
Hb	: Hemoglobin
HCl	: Hidroklorür
HES	: Hidroksietil nişasta
HIF	: Hipoksiyle uyarılan faktör
ICAM	: Hücre içi adezyon molekülü
IMA	: İskemi modifiye albumin
i.p	: İntraperitoneal
kDa	: Kilodalton
kg	: Kilogram
L	: Litre
LR	: Laktatlı Ringer
M	: Molarite
MDA	: Malondialdehit
mEq	: Miliekivalan
mg	: Miligram
MI	: Miyokart İnfarktüs
ml	: Mililitre

mm	: Milimetre
Mmol	: Milimol
MMP	: Metalloproteinaz
N	: Normalite
NaCl	: Sodyum klorür (Tuzlu su)
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
NO	: Nitrik oksit
NP	: Natriüretik peptit
OAB	: Ortalama arteriyel basınç
PBS	: Fosfat tampon solüsyonu
PECAM-1	: Platelet endotel yapışıcı molekül-1
pg	: Pikogram
RAAS	: Renin anjiyotensin aldosteron sistemi
ROS	: Reaktif oksijen türü
rpm	: Dakika başına devir
SB	: Sistolik Basınç
SOD	: Süperoksit dismutaz
T0	: Başlangıç zaman noktası
T1	: Birinci zaman noktası
T2	: İkinci (bitiş) zaman noktası
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TCA	: Trikloroasetik asit
TNF-α	: Tümör nekroz faktör- α
VCAM-1	: Vasküler hücre yapışıcı molekül-1
VO₂	: Harcanan oksijen miktarı

ÖZET

SIÇANLARDA AKUT NORMOVOLEMİK VE HİPERVOLEMİK HEMODİLÜSYONUN ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Muzaffer Utku ÇAKIR

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Uğur AKSU

Sıvı statüsü bilinmeyen cerrahi ve yoğun bakım hastalarına yapılan sıvı uygulamaları iki farklı hemodilüsyon tipini oluşturur. Akut normovolemik hemodilüsyonda sadece aneminin etkisi görülürken, akut hipervolemik hemodilüsyonda aneminin yanında vasküler sistemin gerilmesi de sürece katılır. Çalışmamızda normovolemik ve hipervolemik hemodilüsyonun böbrek üzerindeki ve sistemik etkileri bir sıçan modelinde anlaşılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla hematokrit %25 olacak şekilde kolloid (%6 Hidroksi etil nişasta) uygulanarak hayvanlarda normovolemik ve hipervolemik hemodilüsyon oluşturulmuştur. Deney sırasında hemodinamik ölçümler yapılmıştır ve deney sonunda alınan serum ve böbrek dokusu örneklerinden; rutin biyokimya (laktat, üre, kreatinin, BUN), oksidatif stres (malondialdehit, iskemi modifiye albumin, serbest hemoglobin), inflamasyon (tümör nekroz faktör alfa), glikokaliks hasarı (sindekan-1, sialik asit), atriyal natriüretik peptit ve katekolamin düzeyleri değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgularımıza göre her iki hemodilüsyon hemoliz (serbest

hemoglobin), sistemik inflamasyon (TNF-a), oksidatif stres (MDA), glikokaliks bozulması (sindekan-1), ANP ve katekolamin seviyelerinde (epinefrin, norepinefrin) artışa neden olmuştur. Ayrıca, akut normovolemik hemodilüsyon kan basıncını düşürüp, sistemik hipoksiye ve böbrek fonksiyonuna etki ederek böbrek üzerinde strese neden olmaktadır. Bununla birlikte, akut hipervolemik hemodilüsyonda ise hedef hematokriti elde etmek için daha fazla sıvıya ihtiyaç duyulmaktadır. Sonuç olarak sıvı uygulamaları organ ve dokulara olumsuz etkiler vermektedir. Buna rağmen eğer sıvı uygulaması kaçınılmazsa hasarın daha az görüldüğü hipervolemik hemodilüsyon tercih edilebilir.

Haziran 2019, 62. sayfa.

Anahtar kelimeler: hemodilüsyon, hidroksietil-niştasta (HES), glikokaliks, atriyal natriuretik peptit (ANP), katekolamin, norepinefrin, epinefrin

SUMMARY

THE EFFECTS OF ACUTE NORMOVOLLEMIC AND HYPERVOLEMIC HEMODILUTION IN RATS

M.Sc. THESIS

Muzaffer Utku ÇAKIR

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

Department of Biology

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Uğur AKSU

Fluid applications to patients with unknown fluid status and intensive care unit form two types of hemodilution. In acute normovolemic hemodilution, only the effect of anemia is seen, whereas in acute hypervolemic hemodilution the tension of the vascular system along with anemia is also involved. In our study, we tried to understand normovolemic and hypervolemic hemodilution on kidney and systemic effects in a rat model. For this purpose, hematocrit 25% colloid (6% Hydroxy ethyl starch) was applied to animals in the normovolemic and hypervolemic hemodilution was created. Hemodynamic measurements were performed during the experiment and the parameters of routine biochemistry (lactate, urea, creatinine, bun), oxidative stress (malondialdehyde, hydroxyl, ischemia-modified albumin), inflammation (tumor necrosis factor alpha), glycocalyx injury (syndecan-1, sialic acid), atrial natriuretic peptide and catecholamines were evaluated. According to our findings,

both hemodilution techniques caused an increase in hemolysis (free hemoglobin), systemic inflammation (TNF- α), oxidative stress (MDA), glycocalyx degradation (syndecan-1), ANP and catecholamine levels (epinephrine, norepinephrine). In addition, acute normovolemic hemodilution reduced blood pressure and caused kidney stress by affecting systemic hypoxia and renal function. However, in acute hypervolemic hemodilution, more fluid is needed to achieve target hematocrit. As a conclusion, fluid applications have negative effects on organs and tissues. However, if fluid administration is unavoidable, hypervolemic hemodilution with less damage is preferable.

June 2019, .62 pages.

Keywords: hemodilution, hydroxyl-ethyl starch (HES), glycocalyx, atrial natriuretic peptide (ANP), catecholamines, adrenaline, noradrenaline

1. GİRİŞ

Sıvı uygulamaları sonucunda akut normovolemik hemodilüsyon (ANH) ve akut hipervolemik hemodilüsyon (AHH) olmak üzere iki farklı hemodilüsyon tipi oluşabilir. Her iki durumda da hem damar iç ortamının iyon dengesinin değişmesi hem de kanın akışkanlığının değişmesinden dolayı endotel hücrelerinin yapısı ve fonksiyonu etkilenebilir. Bu süreçte sıvı tipi ve miktarı gibi bir çok etken katılabilir. Kullanılan sıvılar kolloid ve kristaloid tipinde olabilir. Kolloidler yüksek molekül ağırlıklı maddelerden oluşan ve kanın ozmotik basıncını arttıran sıvılardır. Örnek olarak; %6 hidroksietil-nişasta (HES), dekstran, jelatin ve doğal albumin verilebilir. Kristaloid sıvılar ise suda çözülen düşük molekül ağırlıklı tuz veya şeker içeren iyon çözeltileridir. Örnek olarak %0,9 NaCl, ringer laktat ve ringer asetat çözeltisi verilebilir (Gan TJ., 2011). Bir kolloid türevi olan HES damar içinde kristaloidlere göre daha uzun süre kaldığı ve dolayısıyla vasküler stabiliteyi daha fazla koruduğu gösterilmiştir (McIlroy DR. ve diğ., 2003). HES'in bu özelliğinden faydalanarak sabit bir anemik stres oluşturmak için çalışmamızda HES sıvısını hem ANH hem de AHH modelinde kullandık. ANH durumunda alınan veya kaybedilen kan hacmi kadar sıvı uygulaması yapılır. Buna karşılık AHH durumunda ise kan kaybı ya yoktur ya da kaybedilenin üstünde bir sıvı uygulanır (Mielke LL. ve diğ., 1997). Çalışmamızda anemik stresi aynı seviyede oluşturmak için her iki hemodilüsyonu eşit hematokritte oluşturduk.

Sıvı uygulamaları yaygın kullanılmasına rağmen klinikte sıvı statüsünün hakkında bilgi veren herhangi bir parametre bulunmamaktadır. Dolayısıyla kaybedilen kan miktarının net olarak bilinemesinden dolayı ne kadar sıvı uygulanması gerektiği de net değildir. Damar içi kompliyansı dikkate aldığımızda sıvı uygulaması erken dönemde akut normovolemik hemodilüsyon (ANH) sürecini içerir bu süreçte damar içi gerilim lokal mekanizmaların kontrolü altındadır. Buna karşılık kanın dilüye olmasıyla anemik durum vardır. Sıvı uygulaması devam ettiği süreçte anemik derinlik ilerlerken bu süreçte damar içi gerilim de katılır (hipervolemi). AHH ile ilgili birçok hasar çalışması yapılmış ve süreç kolloid ve kristaloid sıvı tipleriyle ilişkilendirilmeye çalışılmıştır (Schebesta, K. ve Kimberger, O., 2012). Sıvıların damar yoluna katılmasıyla öncelikle sıvı-glikokaliks ilişkisi ön plana çıkar. Glikokaliks, hücre zarını örten protein ve karbonhidratların oluşturduğu örtüdür ve vasküler bariyerin bütünlüğünü sağlar, çeşitli hormonların bağlanmasını ve açığa çıkarılmasına izin

verir. Aynı zamanda reseptör çalışmasını da düzenler (van den Berg BM. ve diğ., 2006). Glikokaliks yıkımı sonucu sempatik adrenerjik sinirlerin aktivitelerinde artış da görülmektedir. Epinefrin, norepinefrin gibi katekolaminlerin artışı glikokaliksin bir parçası olan sindekan-1'in de kandaki seviyelerinde paralel artış gözlemlenmiştir (Ostrowski, SR. ve diğ., 2013a). Ancak atriyal natriüretik peptid (ANP) teorik bilgilere göre epinefrin ve norepinefrinin artışı sonucu salgılanan ve etkilerini engelleyen bir hormon olmasına rağmen üç maddenin de kandaki seviyelerinde sürekli bir artış görülmesi ve bunların birbiriyle ilişkisinin hakkında bir çalışma bulunmamaktadır (Tunny TJ. ve diğ., 1988; De Vito P., 2014). Ek olarak ANP'nin bazı organlarda oksidatif stresi arttırmasına rağmen bazı organlarda anti-oksidant etki göstermesi de çalışma mekanizmasının ve katekolaminler ile etkileşiminin nasıl olduğu merak konusudur (De Vito P. ve diğ., 2010).

Çalışmamızda sentetik bir kolloid olan HES ile yapılan iki farklı hemodilüsyon tipinin anemiye en duyarlı organ olan böbrek üzerindeki ve sistemik etkileri anlaşılmaya çalışılmıştır. Malzeme ve yöntem bölümünde, bahsedilen süreçleri incelemek için kullandığımız parametreleri nasıl elde ettiğimiz, bulgular bölümünde elde ettiğimiz sonuçlar, tartışma bölümünde ise çalışma sonuçlarını nasıl değerlendirdiğimiz anlatılacaktır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. SIVI UYGULAMALARININ TARİHİ

Yaklaşık 200 yıl öncesine kadar damar içine uygulanarak yapılan herhangi bir sıvı tedavisi bulunmamaktaydı. Bununla birlikte, vücut sıvısında önemli miktarda kayıplar olsa dahi, evrimsel uyum sağlama mekanizmaları sayesinde teorik olarak yaşam sürdürülebilirdi. Bu durum ile ilgili mekanizmalar; bölgesel vazokonstriksiyonu, koagülasyon kaskadının aktivasyonunu ve şiddetli kanama ortamında sıvının ve kan hücrelerinin intravasküler kompartmana yeniden dağıtılmasını içerir. Ayrıca hipovolemi durumunda uzun dönemde vücut sıvılarını korumak için antidiüretik hormonun (ADH) salınımı ve tübülo-glomerüler geri bildirimin (Thurau mekanizması) etkinleşmesi önemlidir (Thurau K., 1976).

İlk defa tedaviye yönelik intravenöz sıvı uygulamaları 19. yüzyılda Avrupa'daki kolera salgını döneminde görülmüştür. O'Shaughnessy'in asistanı Leith'li Dr. Thomas Aitchison Latta, kolera hastalarını intravenöz tuz çözeltisi ile tedavi etmiş ve gözlemlerini not almıştır. Daha sonra 1832 yılında 58 miliekivalan (mEq) sodyum, 49 mEq klorür ve 9 mEq hidrokarbonattan oluşan solüsyonun intravenöz uygulamasının etkilerini açıklamıştır. Hastasında uzun zamandır ölçemediği nabzın bileğinde tekrardan farketmeye başladığını, daha rahat nefes aldığını, çökük gözlerinin git gide parlamaya başladığını gözlemlediğini belirtmiştir. Latta, uygulama sonrası yeniden idrar çıkışını ve morluklarının azalması gibi diğer gözlemlerini de açıklamıştır. Ancak, Latta ve diğ., bu olumlu etkilerin sadece uygulamadan kısa bir süre sonra gözlemlenebileceğini kabul etmişler ve uygulamadan kısa süre sonra hastalar eski kötü sağlık durumlarına geri dönmüş, hatta ölenler olmuştur.

Latta 1833'te tüberkülozdan öldükten sonra sıvı tedavisinin öncülerinden biri intravenöz sıvılar üzerinde çalışmaya başlayana dek yaklaşık 50 yıl geçmiştir. Elli yıl aradan sonra İngiliz klinisyen ve farmakolog Sidney Ringer, izole kurbağa kalplerinin belirli bir süre pompalamaya devam etmesi için çözelti oluşturmaya çalışmıştır. Deneylerine %0,75 tuzlu su çözeltisiyle başlamış ve deneyleri sırasında albumin veya insan kan gibi çeşitli bileşenleri çözeltisine eklemiştir. En başarılı çözüm, 1880'lerde damıtılmış su yerine çeşme suyu seçimi ile yapılmıştır. Ringer çeşme suyundaki kalsiyum konsantrasyonunun insan kanındaki konsantrasyona yakın olduğunu ve bu da Ringer'ın çeşme suyundaki inorganik tuzların

(özellikle kalsiyum ve potasyum) kalbin atmasında fizyolojik rol oynadığını gözlemlemesinde öncü olmuş ve kısa süre sonra da "Ringer'in orijinal inorganik tuz çözeltisi" ortaya çıkmıştır (Miller DJ., 2004).

Aynı zaman diliminde, Hollandalı fizyolog ve kimyager Hartog Jacob Hamburger tuz solüsyonlarının insan eritrositlerindeki etkisi üzerine çalışmalar yapmıştır. İnsan kanının şimdiye kadar fizyolojik tuz çözeltisi olarak adlandırılan, %0,6'lık yerine %0,9'luk bir tuz solüsyonuyla izotonik olduğunu göstermiştir. Ringer'in solüsyonu, 1930'lu yıllarda Amerikalı çocuk doktoru Alexis Hartmann tarafından değiştirilene kadar gelecek 50 yıl boyunca kristaloidlerde başka bir gelişme olmamıştır. Asitliğe bir tampon sağlamak için Ringer'in çözeltisine laktat ilave ederek, bugüne dek dünya çapında gastroenteritli çocukların rehidrasyonu için kullanılan Ringer'in Laktatlı solüsyonunu geliştirmiştir (Awad S. ve diğ., 2008). İkinci Dünya Savaşı sırasında kandan albumin izole edilmesiyle albumin resüsitasyon için kullanılabilir hale gelmiştir. Aynı dönemde dekstran 1944'te İsveç'te Grönwall ve Ingelmann tarafından ilk defa denenmiştir (Ertmer C. ve Kampmeier T., 2014).

Bir sentetik kolloid olan hidroksietil-nişasta (HES) 1957'de geliştirilmiştir. İlk hazırlanan HES'ler yüksek yoğunluklu (%10 HES 450/0,7) mumlu-mısır türevi nişastalardır. Daha sonraları bu yüksek moleküler ağırlığın hastaların böbrek fonksiyonlarını olumsuz etkilediği ve dokuda biriktiği anlaşılmıştır. Sonraki HES nesillerinin molekül ağırlığı ve molar ikamesi giderek azaltılmış ve (2. kuşak; %10 HES 200/0,5; "modern" - 3. kuşak; %6 HES 130/0,4) HES'ler toplam sıvı miktarını arttırmak ve ödem oluşumunu azaltmak amacıyla resütasyon için dünya çapında kullanılmıştır (Ertmer C. ve Kampmeier T., 2014).

2.2. SIVI TİPLERİ

Günümüzde intravenöz uygulama amaçlı birçok sıvı tipi mevcuttur. Her bir sıvı için verilen bir doza karşılık gelen klinik verimlilik yoğunlukla benzerdir. Ancak uygulanacak sıvı miktarı, türü, içeriği ve dozu; hastanın yatkınlıkları, fizyolojik rezerv ile birlikte düşünüldüğünde buna bağlı olarak uygulanan sıvının toksisitesi değişebilir. Ana grup olarak sıvılar büyük moleküllü maddeler içeren kolloidler ve tuz çözeltilerinden oluşan kristaloidler olacak şekilde ikiye ayrılır. Kolloidler veya kristaloid solüsyonları seçimindeki riskler ve birbirlerine göre avantajları hakkında tartışmalar devam etmektedir. Kristaloid solüsyonların çeşitli tipleri insanlarda resüsitasyon için 1830'lardan beri kullanılmaktadır. Dekstran, HES ve

jelatinler gibi sentetik kolloidler, yine bir kolloid olan albümine karşı bir alternatif olarak düşünülmüşlerdir. Yapılan bir çalışmaya göre, akut resüsitasyon için kullanılan primer sıvı tipinde ülkeler arasında 6 kat fark bulmuştur ve kolloid tedavi, akut resüsitasyonda yoğun hacimli sıvı tedavisinde kullanılan en yaygın sıvı türüdür (Finfer S. ve diğ., 2010). Buna rağmen sıvı türü seçerken hastanın ve hastalığın türüne göre seçilmesi önerilmektedir.

2.2.1. Kristaloidler

Kristaloid sıvılar suda eriyen düşük molekül ağırlıklı tuz veya şeker içeren iyon çözeltileridir ve vasküler endotel bariyer boyunca serbestçe geçme özelliğine sahiptirler. Örnek olarak %0,9 NaCl çözeltisi, ringer laktat çözeltisi ve ringer asetat çözeltisi verilebilir. Son yıllarda, birkaç çalışma, sıvı tedavisinin göreceli düşük klorür konsantrasyonlu sıvılar ile yapıldığında komplikasyonları azalttığını ve hasta sonuçlarını iyileştirdiğini bildirmiştir (Chowdhury AH. ve diğ., 2012; Young JB. ve diğ., 2014). Dolayısıyla deneysel ve küçük klinik çalışmaları ile uyumlu olarak, düşük klorür içeriğine sahip kristaloid solüsyonların kullanılması yararlı bulunmuştur.

İdeal elektrolit çözeltisi henüz keşfedilmemiş olmakla beraber, resüsitasyon sırasında plazmadan daha düşük bir iyon konsantrasyonu olan çözeltilerin kullanması fikri yaygındır. %0,9'luk tuzlu su çözeltisi en çok kullanılmasına rağmen dengeli kristaloid solüsyonların kullanılması da gündemdedir (Rewa O. ve Bagshaw SM., 2015).

Çeşitli kristaloidlerin etkileri sağlıklı gönüllülerde incelenmiştir. Laktatlı ringer (LR) solüsyonu serum ozmolalitesini kısa bir süre azaltmış ve 1 saat sonra başlangıç seviyesine geri dönmüştür. Normal tuzlu su (% 0,9 NaCl) serum ozmolalitesini etkilememesine rağmen metabolik asidozu neden olmaktadır (Williams EL ve diğ., 1999). %0,9 NaCl ile ilişkili olarak daha fazla sıvı ihtiyacına neden olduğu, miyokart performansını düşürdüğü, periferik vasküler direnci azalttığı gözlemlenmiştir. Bu komplikasyonların hepsi hiperkloremik asidoz ile ilişkilendirilmiştir (Burch JM. ve diğ., 1992).

Yapılan bir araştırmada LR, %0,9 serum fizyolojik ile karşılaştırıldığında, LR'nin ortalama arter basıncını korumak için daha az kullanıldığı ve çalışmanın sonunda daha az asidemi, daha yüksek plazma fibrinojen seviyeleri ve düşük plazma laktat seviyeleri gözlemlenmiştir (Todd SR. ve diğ., 2007). Buna ek olarak %0,9 NaCl'ün dengeli kristaloid solüsyonlarla yapılan resüsitasyona kıyasla trombosit fonksiyon bozukluğu, koagülasyon kaskadının bozulması ve

kan ürünlerine olan ihtiyacın artmasıyla ilişkilendirilmiştir (Orbegozo Cortes D. ve diğ., 2014).

Son yıllardaki veriler yüksek klorür konsantrasyonlu solüsyonların böbrek mikrovasküler vazokonstriksiyonuna, glomerüler filtrasyonda azalmaya ve daha fazla interstisyel sıvı birikimine yol açtığı açıkça ortaya çıkmıştır (Rewa O. ve Bagshaw SM., 2015). Bu yüzden dengeli kristaloid solüsyonları, diğer kristaloid solüsyonlarına oranla daha çok tercih edilmektedir.

2.2.2. Kolloidler

Kolloidler, 40 kDa'yı aşan makromoleküller içeren doğal (örn.: albumin) ve sentetik (örn.: nişastalar, dekstranlar, jelatinler) olarak sınıflandırılan sıvılardır. Yüksek molekül ağırlıklı ve kanın ozmotik basıncını arttıran kolloidler; NaCl veya dengeli tuz çözeltileri içinde çözülür. Öncelikle hayvan modellerinde kolloidlerin, kristaloidlere göre plazma hacmini artırma kabiliyetinin daha iyi olduğu gösterilmiştir (kristaloid: kolloid için 1.2-1.4:1 oranı) (Finfer S. ve diğ., 2004). Bununla birlikte, kolloid çözeltiler, kristaloidlerden çok daha pahalıdır ve eşdeğerlik ve zarar kanıtı üstünlüğü göz önüne alındığında, maliyet-etkinliği düşüktür.

Kolloid uygulaması plazma onkotik basıncını arttırmaktadır. Yüksek moleküler ağırlıkları nedeniyle kolloidler glikokaliks örtüsüyle etkileşebilir ve adsorbe edilebilir ve ultrafiltrasyonu sınırlayabilirken, kristaloidler intravasküler ve interstisyel alan arasında dağılır (Levick JR. ve Michel CC., 2010). Sağlıklı ve bozulmamış vasküler bariyerlerde, kolloidler 16 saat boyunca intravasküler alan içerisinde kalırken, LR çözeltisi ve % 0,9 NaCl gibi kristaloidler 30-60 dakika damar içinde kalmaktadır. Endotelyal glikokaliks genellikle kritik hastalarda hasarlıdır ve bu nedenle kapillerde sızma görülür. Bir kolloid solüsyon, hücreler arası boşluğa yayıldığında bariyerler arasındaki onkotik basınç gradiyetini düşürür ve bu olay ekstravazasyon ile sonuçlanır. Dolayısıyla kolloidler intravasküler hacmi birkaç dakika içinde veya saatler içinde iyileştirebilir. Ancak toplam vücut sıvısındaki etkisi birikerek devam eder. Kritik hastalar daha fazla sıvı tutma eğilimi gösterirler ve aşırı sıvıyı dışarı atmak için günler veya haftalar gerekir.

Albumin, intravasküler ozmotik basıncı korumak için kullanılan ana moleküldür ve damar içinde protein eksikliklerini gidermek için ideal bir kolloiddir. Albumin kanın parçalanması

ile üretilir ve patojenlerin bulaşmasını önlemek için ısıtılardan geçirilir ve bu nedenle, alerjik ve immünolojik komplikasyonlara neden olabilir.

Jelatinler parçalanmış sığır kolajeninden üretilir. Jelatinlerin ortalama moleküler ağırlığı 30-35 kDa'dır, diğerlerine kıyasla benzer hacim genişletme özelliğine sahiptir. Ancak düşük ve orta moleküler ağırlıklı jelatinlerin, molekül ağırlığı yüksek HES ile karşılaştırıldığında interstisyel alana sızıntı yapma olasılığı daha yüksektir. Dolayısıyla HES'ler jelatinlere göre daha uzun süre intravasküler alanda korunur. Jelatinlerin böbrek fonksiyonu üzerine etkilerini bir kenara bırakacak olursak pıhtılaşma ve organ bütünlüğü açısından nispeten güvenlidirler. Ancak jelatinlerin kullanımı böbrek yetmezliği olan hastalarda dikkat edilmelidir (Bayer O. ve diğ., 2011).

Bir nişasta türevi olan HES mısır ya da patateslerden elde edilen amilopektinin hidroksietil ikamesinden türetilmiş yapay bir polimerdir. Glikoz ünitesinin hidroksietilasyonu, spesifik olmayan amilazlara bozunmasına ve sudaki çözünürlük açısından hidrolize karşı koruma sağlar. Bu yarı sentetik kolloid, çeşitli konsantrasyonlarda, moleküler ağırlıklarda, molar süstitüsyonlarda, C^2 / C^6 oranlarında, solventlerde ve farmakolojik profillerde mevcuttur.

Yüksek bir molekül ağırlığına sahip HES, daha yavaş metabolize olur ve intravasküler genişlemeye neden olur. Bu yüzden HES; subkutanöz doku, karaciğer ve böbrekte birikebilir. Yüksek moleküler ağırlık (>200 kDa) ve molar değişim oranı >0.5 (200/0.6) olan bir HES çözeltisi, von Willebrand faktöründe ve faktör VIII'de bir azalmaya bağlı olarak koagülopatiyle, trombosit yapışmasında azalmayla, viskoelastisite değişiklikleri ve fibrinoliz ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Franz A. ve diğ., 2001). Sepsis hastalarında %10 HES 200/0,5 kullanımı akut böbrek hasarı olasılığında artış ile ilişkilendirilmiştir (Brunkhorst FM. ve diğ., 2008).

Yeni nesil HES'lerin ise molekül ağırlığı daha düşük (130 kDa) ve molar değiştirme oranları 0.38-0.45'dir. Önerilen maksimum günlük HES (130/0,4) dozu 33-50 ml.kg-1 'dir. HES (130/0.4), septik ve hemorajik şok fare modelinde resüsitasyon sıvısı olarak uygulandığında, tümör nekroz faktörü-alfa, interlökinler ve oksidatif stres düzeylerini azaltarak inflamatuvar yanıtları zayıflattığı gösterilmiştir (Feng X. ve diğ., 2007; Wang P. ve diğ., 2009). Ayrıca HES solüsyonların inflamasyonu hafifleterek endotelial bariyer fonksiyon bozukluğu ve vasküler sızıntıyı hafifletmesi ve barsak bariyer fonksiyonunu koruduğu çalışmalarda

gösterilmiştir. Ayrıca klinik çalışmalarda sepsiste mikrodolaşımın canlandırılması için kolloid solüsyonlarının üstünlüğünü göstermiştir (Marx G. ve diğ., 2004).

HES uygulamasının avantajlı taraflarına rağmen, yalnızca kristaloidler yeterli olmadığı zaman, en kısa sürede en düşük etkili dozda akut kan kaybına bağlı olarak hızlı hacim replasmanı için kullanılması gerektiği düşüncesi yaygındır. Sürekli olarak hemodinamik takip ile idame edilmesi ve uygun hemodinamik amaçlara ulaşıldığında uygulama durdurulması tavsiye edilir.

2.3. HEMODİLÜSYON VE ANEMİ

Hemodilüsyon; acil serviste veya yoğun bakımda sıvı replasmanı sırasında oluşur veya kardiyopulmoner bypass cerrahisinde ve cerrahide transfüzyon gereksinimlerini azaltmak için klinik bir teknik olarak kullanılan yöntemdir (Beards SC. ve diğ., 1994; Jones JG. ve Wardrop CA., 2000; Ranucci M. ve diğ., 2005; Licker M. ve diğ., 2005; Jones SB. ve diğ., 2004). Hemodilüsyon ile hematokrit azalır, kanın oksijen taşıma kapasitesini düşer, ardından periferik dirençte bir düşüş, venöz dönüş ve kalp debisinde artış gözlemlenir. Hemodilüsyonda öncelikle akut anemi görülmeye başlanır. Dünya Sağlık Örgütü anemiyi hemoglobin (Hb) konsantrasyonunun yetişkin erkekler için 13 g/dl'nin altına, kadınlarda ise 12 g/dl'nin altına düşmesi olarak tanımlamaktadır.

Akut anemi ve hemodilüsyon, cerrahi müdahale gerektiren hastalarda organ hasarında artış (beyin, kalp, böbrek) ve mortalite ile ilişkilendirilmiştir (Hare G., 2014). Ayrıca akut anemide belirleyici olarak hemoglobin seviyelerinin ve hematokrit seviyelerinde düşüşe bağlı olarak inme, miyokardiyal infarkt, akut böbrek hasarı, enfeksiyonlar (pnömoni, yara enfeksiyonları ve sepsis), aritmiler, kanama, yoğun bakım ve hastanede kalış sürelerinde artış görülebilir.

Engoren ve diğ. yaptığı araştırmada 5000 ardışık kalp cerrahisinin retrospektif bir analizini rapor etmişlerdir. İnme, miyokard enfarktüsü (MI), düşük kalp debisi, kardiyak arrest, böbrek yetmezliği, uzamış mekanik ventilasyon, pulmoner ödem, kanama, sepsis ve multipl organ yetmezliği, ameliyat olan hastalarda, %22 hematokrit değeri ile anlamlı şekilde artmıştır (Engoren MC. ve diğ., 2002).

Akut anemi esnasında, hücresel sağ kalımı korumada anahtar niteliğindeki faktörler adaptif kardiyovasküler ve hücresel yanıtlardır. Kardiyovasküler yanıtlardan en önemlisi anemi

durumunda dağıtılan oksijen azalırken (DO_2), harcanan oksijen miktarının (VO_2) sabit kalmasının dengesini sağlayan sistemlerdir. Ancak ANH'de yapılan çalışmalarda lokal olarak oksijen sunumunun sağlanmadığı görülmektedir.

Hücresele seviyede ise birçok önemli fizyolojik mekanizma öne çıkmaktadır. Hipoksi algılama mekanizmaları, hipoksiyle uyarılan faktör (HIF) de dahil olmak üzere mitokondriyal ve hipoksiye duyarlı proteinleri içerir. Bu mekanizmalar tüm hücrelerde bulunur; dolayısıyla vücudun her hücresi, oksijen hipoksiye anında cevap verebilir. Hemoglobini düştükçe, dokuda pO_2 'de bir orantısız azalma gelişir ve bu durum aortik kemoreseptörler üzerinden sempatik sinir aktivitesinde, kalp debisinde, kalp ve beyin gibi hayati organlara organ kan akışında hiyerarşik bir artışı içeren adaptif yanıtlar ile ilişkilidir. Bunlarla beraber lokal doku oksijen sunumundaki sınırlamayı HIF sentezindeki artışı sağlayarak da gerçekleştirmektedir. Ancak zaman içerisindeki HIF'ın bu artışı fibrosis ve glomerular hasarla sonuçlanmaktadır (Higgins DF. ve diğ., 2007).

ANH uygulaması sonucu görülen bu durumlardan sonra araştırmacılar, bu uygulamaya alternatif olarak AHH ortaya sunmuşlardır. Hipervolemik hemodilüsyonun kolaylıkla yapılabilir olması ve daha ucuz olması klinikte ilgi çekmesinde önemli sebepler arasında gösterilebilir. Kırk-dokuz kalça protezi ameliyatı geçiren hastada yapılan araştırmada uygulanan bu iki hemodilüsyon tekniği sonucunda herhangi bir fizyolojik fark görülmemiştir (Mielke LL. ve diğ., 1997). Buna karşılık hipervolemiye bağlı hacim yüklemesi sonucu doku ödemi, kardiyopulmoner komplikasyonlar ve hastanede kalış süresini uzatan durumlar ortaya çıkabileceği gösterilmiştir. Vücut, atriyal natriüretik peptidin (ANP) kalpten salınması ile hipervolemiye tepki verir. ANP'nin hipervolemiye cevap verirken vasküler geçirgenlik bariyerinin vazgeçilmez bir parçası olan endotelial glikokaliksi bozduğu gözlemlenmiştir (Chappell D. ve diğ., 2014).

2.4. ATRİYAL NATRİÜRETİK PEPTİT (ANP)

ANP, kardiyovasküler sistemin iç dengesini sürdürmek için önemli işlevler yürüten kalpten salgılanan bir hormondur. ANP, beyin (BNP) ve C-tipi (CNP) natriüretik peptitlerle birlikte natriüretik peptit ailesine aittir. Genelde atriyal kardiyomiyositlerin salgılaması ile kardiyorenal homeostazın idame ettirilmesi için önemli düzenleyici işlevleri vardır (Brenner BM. ve diğ., 1990).

Bu peptitler genetik açıdan birbirinden farklıdır ancak omurgalılarda yapısal ve işlevsel olarak birbirleriyle ilişkilidir ve her biri bir disülfid bağı ile yapılandırılmış 17-amino asit siklik bir yapıya sahiptir. Natriüretik peptitler (NP) kardiyomiyositler, fibroblastlar, endotel hücreleri, immün hücreler (nötrofiller, T hücreleri ve makrofajlar) ve embriyonik kök hücreler ve kalp kası öncül hücreler (CPC) gibi olgunlaşmamış hücreler tarafından belirli mekanizmalar yoluyla sentezlenir ve salgılanır. Genellikle kardiyovasküler, beyin ve böbrek dokuları tarafından damar duvarı gerilmesi ve diğer nedenlere yanıt olarak üretilirler. NP'ler natriürez, diürez, vazodilatasyon, anti-proliferasyon, anti-hipertrofik, anti-fibrotik ve diğer kardiyometabolik korumaları sağlar. Daha da önemlisi, NP'ler vücudun endojen antihipertansif sistemini temsil eder ve renin anjiyotensin-aldosteron sistemi (RAAS) ve sempatik sinir sistemi tarafından salınan vazokonstriktör-mitojenik-sodyum tutucu hormonları dengelemek için telafi edici koruma sağlar (Zois NE. ve diğ., 2014).

ANP'nin doğrudan etkisi kan basıncını düşürme yönündedir. ANP artan damar permeabilitesi ve kan akışı üzerinden kan basıncını düşürür. ANP, intravasküler sıvıyı interstisyel alana kaydırarak kardiyak yükü düşürür. ANP; aort, ventrikül ve böbrekteki Ca^{2+} /kalmodulin-bağımlı endotelial nitrik oksit (NO) sentazı, vasküler düz kas hücreleri için daha fazla NO üretmek üzere uyarır.

ANP sadece barorefleks mekanizmasını düzenlemekle kalmaz, aynı zamanda sempatik aktiviteyi de baskılar ve vagal sinirin uyarımını artırır. Perifer damarlarda, sinir uçlarından katekolamin salgısını baroreseptörlerin aktivasyon eşiğini düşürerek sempatik sinir sisteminin etkileri azaltılmaktadır (Floras JS., 1995).

2.5. GLİKOKALİKS VE ANP-GLİKOKALİKS HASARI

Damar iç yüzeyinde endotelin lümene bakan kısmını döşeyen ve protein-karbonhidratların oluşturduğu örtüye glikokaliks denir. Glikokaliks, hücreler arası bağlantılar ile birlikte vasküler bariyeri oluşturur ve çeşitli hormonların ve endotel-lökosit ilişkisine aracılık yapar. Glikoproteinler ve proteoglikanlar, glikokaliksin temelini oluştururlar. Proteoglikanlar, negatif yüklü glikozaminoglikan (GAG) yan zincirlerine tutturulmuş bir protein unsuruna sahiptir. GAG yan zinciri sayısı ve hücre zarına bağlanmalarının boyutlarında değişiklik gösterebilir. Bazı proteinler sıkıca membrana gömülmüş bir bölge (sindekanlar) veya glikosilfosfatidilinositol çapa (glipikan) yoluyla bağlanır. Diğer proteinler (perlekanlar,

versikanlar, dekorinlar, biglikanlar ve mimekanlar) GAG yan zincirlerinin bağlanmasıyla sorumlulardır. GAG yan zincirleri, heparan sülfat, hiyalüronik asit, kondroitin sülfat, dermatan sülfat ve keratin sülfattan olmak üzere 5 çeşittir. Hiyalüronik asit, genellikle bir proteine bağlı olmayan ve su ile çözelti oluşturan tek GAG'dır.

Glikokaliks, endotel hücrelerine plazma proteinlerini ve çözünür GAG'leri bağlamak için bir çerçeve sağlayan bir luminal örgüden oluşur. Glikokaliksin kendisi inaktiftir. Ancak plazma bileşenleri bağlandıktan sonra, fizyolojik olarak aktif endotel yüzey katmanı oluşur. Glikoproteinler adezyon molekülleri olarak görev yapar ve pıhtılaşma, fibrinolitik ve hemostatik sistemlere yardımcı olurlar. Hücre adezyon molekülleri selektinlere (E ve P), integrinlere ve immünoglobülinlere ayrılır (Alphonsus CS. ve Rodseth RN., 2014).

Histamin ve trombin, P-selektin ekspresyonunu uyarırken, interlökin-1, tümör nekroz faktörü (TNF-a) ve lipopolisakkaritler E-selektin'in anlatımını uyarır. İntegrinler, endotel matrikste kollajen, fibronektin ve laminin'e bağlanır ve trombositlerin endotel hücresi ile etkileşimine aracılık eder. İmmünoglobulinler, hücre içi adezyon molekülleri 1 ve 2'yi (ICAM-1, ICAM-2), vasküler hücre yapışıcı molekülü 1'i (VCAM-1) ve platelet - endotel hücre yapışıcı molekülü 1'i (PECAM-1) içerir.

Glikokaliks net bir negatif yüke sahiptir. Negatif yük, deseni, zamana, fizyolojik ve patofizyolojik uyaranlara göre modifiye edilen GAG yan zincirinin sülfitletmesine bağlıdır. Sülfitletmedeki değişiklikler protein bağlanmasını ve vasküler geçirgenliği düzenler (Reitsma S. ve diğ., 2007).

Vasküler bariyer boyunca sıvı hareketi modelleri, Starling tarafından 1896'da türetilen prensiplere dayanır. Starling, sıvı homeostasisini düzenleyen dört kuvveti tarif etmiştir. Doku onkotik ve luminal hidrostatik basınçların toplamı, sıvıyı damardan dokuya doğru iter. Doku hidrostatik ve lümenal onkotik basınçların toplamı, sıvıyı dokudan damara doğru iter. Modelde, kapiller damarın arteriolar ucundaki net kuvvet, sıvıyı dışarı iter ancak sıvıyı venöz uca geri iter. Bununla birlikte, endotel yüzey katmanının zaman içerisinde anlaşılmasıyla Starling'in hipotezi de değiştirilmiştir ve son 25 yılda ek süreçleri ortaya koyan deneyler bulunmaktadır.

Starling kendi hazırladığı Starling denklemini revize eden glikokaliks ile sıvı ekstravazasyonundaki azalmanın farkında değildi. Glikokaliks modeli, bu sorunları ortadan

kaldıran etkili bir sistem sunar. Bu modele göre sıvı filtrasyonu, kapiller lümende endotel yüzey tabakası tarafından başladığı noktada düzenlenir (Becker BF. ve diğ., 2010).

Endotelyal glikokaliks normal şartlarda eritrosit ve lökositleri kendisinden iter. Ancak inflamasyon durumlarında glikokaliksin içinde saklanan adezyon molekülleri ortaya çıktığında lökositlerin endotel duvarına yapışmasını ve hareket etmesini sağlar. Endotel yüzey tabakası, endotel hücrelerini kan akışının gerilim stresinden korur. Kan akımının artması ile birlikte damarı genişleten ve stresi azaltan NO üretimi artar.

Ligandların ve enzimlerin endotelyal glikokalikse bağlanması hücrel sinyallerin iletimini ve enzimatik dönüşümleri kolaylaştırır. Bazı önemli anti-koagülant maddeler de glikokalikse bağlanır. Heparin kofaktör-2 ve antithrombin-3'ün bağlanma proteinleri heparan ve dermatan sülfat glikokaliksin içersinde yer alan moleküllerdir ve bu anti-koagülant moleküllere aracılık ederler. Glikokaliksin endoteli koruduğu yollardan biri, hücre dışı süperoksit dismutaz (SOD) gibi oksijen radikallerini süpüren enzimlere bağlanma kapasitesidir. Bu enzimler, oksidatif stresin azalmasına yardımcı olur ve NO geri dönüşümünü korumaya yardımcı olur ve böylece endotel hasarını önlerler. Endotel yüzey tabakası kırılmalıdır.

Glikokaliksin dökülmesi kapiller damarlardan sızıntılara, ödeme, inflamasyonların hızlanmasına, trombosit birikimine, aşırı koagülasyon ve vasküler yanıt kaybına yol açabilir. Vasküler endotel, sistemik inflamatuvara yanıt sendromunda yer alan en temel bölgelerden biridir. Endotelyal glikokaliks bakteriyel lipopolisakkarid tarafından hasar görünce, TNF- α , salgılanır. Mast hücreleri TNF- α ile aktive edilir ve sitokinler, proteazlar, histamin ve heparanaz serbest bırakarak glikokaliksin daha çok parçalanmasına sebep olurlar. Glikokaliksin bozulması endotel hücresi yapışıcı moleküllerini açığa çıkararak daha ileri derecede inflamasyonu, yuvarlanma hareketlerini ve lökositlerin ve trombositlerin yapışmasını, ateroskleroza tetikler (Alphonsus CS. ve Rodseth RN., 2014). Proteazlar inflamatuvar koşullar altında salınan ve aktive edilen önemli metabolik ajanlardır ve bu durum glikokaliks için önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Bunlara özellikle metalloproteinazlar (MMP) ve nötrofil elastaz dahildir (Lipowsky H., 2012).

Glikokaliksin bozulmasında ANP'nin de etkisi vardır. Atriyal gerilim ANP'yi salgılatır. Böylelikle, tuz ve suyun böbrekten atılımını ve vasküler geçirgenliği arttırarak plazma hacmini azaltır. İzole kobay kalplerinde, ANP infüzyonu, kolloid ekstrasvazasyonunu

arttırmıştır. Ayrıca ANP, koroner endotel yüzey tabakasını indirgemekte, sindekan proteininin hızlı dökülmesine neden olmaktadır (Bruegger D. ve diğ., 2005). AHH yapılan hastalarda, uygulama hacminin %60'ı birkaç dakika içinde interstisyel bölgeye sızmıştır (Rehm M. ve diğ., 2001). ANH ve AHH'de ANP'nin etkilerini değerlendiren bir diğer çalışmada ise hipervolemik hemodilüsyonda hacim yüklenmesi sonucunda ANP'nin artmasıyla serum sindekan ve hiyalüronan seviyelerinde yükselme görülmüştür (Chappell D. ve diğ., 2014).

Hiperglisemi görülen hastalarda da glikokaliks kalınlığında düşüş görülmüştür. Sağlıklı kontrol hastalarının glikokaliks kalınlığı tip-1 diyabeti olan hastalara oranla 2 kat daha fazla bulunmuştur. Aynı çalışmada, diyabetik hastalarda hasar gören glikokaliksin dökülmesine bağlı olarak hiyaluronan ve hiyaluronidazın plazma seviyeleri daha yüksektir. Hiperglisemik hasara oksijen radikallerinin veya glikokaliks bozucu enzimlerin etkinleştirilmesinin aracı olabileceği düşünülmüştür (Nieuwdorp M. ve diğ., 2006).

Normal böbrek fonksiyonu da sağlam bir glikokalikse bağlıdır. Glomerüldeki porlar albumin moleküllerinden çok daha büyük olmasına rağmen plazma albümininin sadece %0,06'sı normal olarak filtrelendirir (Obeidat M. ve Ballermann BJ., 2012). Endotel yüzeyi tabakasının bozulması, glomerüler kılcal duvarın albumine geçirgenliğini artırır; bu durum endotel yüzey tabakasının bozulmasının, yük seçiciliğinde bir kusuru olduğunu gösterir.

Endotelyal glikokaliks hasarı yapılan çalışmalarla katekolaminlerin düzeyi ile ilişkilendirilmiştir. Aşırı sempatoadrenal salınma, akut kritik hastalıkta görülen bir durumdur. Dolaşımdaki katekolaminlerdeki artış vasküler endotele doğrudan zarar verirler, bu durum lokal ödem, endotel hücre şişmesi, nekroz ve endotel bozukluğuna neden olur (Johansson PI. ve diğ., 2011).

2.6. REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ (ROS) VE ANP-GLİKOKALİKS HATTI

Başlangıçta serbest radikallerin ve antioksidan üretimi arasında radikallerin lehine doğru değişen bir denge olarak tanımlanan oksidatif stres, farklı fizyolojik ve patolojik süreçlere aracılık eden önemli bir süreçtir. Birçok enzimin artık hücre içi ROS seviyelerinde bir artış meydana getirebileceği kabul edilmektedir. Bunlar; ksantin oksidaz, sitokrom P450 monoksijenaz, araşidonik asit metabolizmasının siklooksijenaz yolu, plazma membran nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidazlar ve özellikle mitokondriyal solunum yollarının bileşenleri gibi enzimlerdir. Oksidatif stres sırasında süperoksit anyon (O_2^-

), hidroksil radikali (OH^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi çeşitli ROS türleri üretilir (Rojkind M. ve diğ., 2002).

Süperoksit anyonları, elektron taşıma zincirindeki eksik oksijen indirgemesi ile NADPH oksidaz enzimatik etkisi ile üretilir. Süperoksitler; oksidazlar, peroksidazlar, mono-di-oksijenazlar ve sitokrom P450 gibi birçok enzimatik mekanizma tarafından da üretilir. Fizyolojik koşullar altında SOD enzimi O_2^- ve H_2O_2 'ye bozunmasını katalize eder. Oluşan H_2O_2 molekülü de katalaz enzimi tarafından su ve oksijene dönüştürülür.

Nötrofiller ve makrofajlar gibi fagositik hücrelerde, solunumsal patlama sırasında ve fagositoz ile mikrobik patojenlerin öldürülmesi sırasında NADPH oksidazlar harekete geçirilir. Bununla birlikte, bu enzimler aynı zamanda endotel hücreleri, düz kas hücreleri, fibroblastlar, mezenşiyel hücreler ve kardiyomiyosit gibi çeşitli fagositik olmayan hücrelerden de salınabilir. NADPH oksidaz kompleksinin etkinleştirilmesi; hücre içi depolardan kalsiyum salınmasına, ardından protein kinaz C- α 'ye bağımlı fosforilasyona ve sitosolik fosfolipaz A2 ile araşidonik asit üretimine bağlıdır.

Aşırı ROS üretilmesinin hipertansiyon, kardiyovasküler sistemdeki inflamasyon, kardiyak hipertrofi, kardiyomiyopati ve iskemik kalp hastalığı gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıklarda hem başlatıcı hem de devam ettirici olarak rol oynadığı gösterilmiştir (Akki A. ve diğ., 2009; Penna C. ve diğ., 2009; Pechanova O. ve Simko F., 2009).

Açığa çıkan ROS'dan dolayı, çıkan bölgeye bağışıklık yanıtı aracılığıyla lökositler toplanır. İnflamasyon hücreleri aktifleştikten sonra, glikokaliks hasarına katkıda bulunabilecek çok çeşitli enzimleri ve reaktif türleri serbest bırakırlar. Bu araçlar glikokaliks hasarına neden olabilir.

Endotelial glikokaliksin bütünlüğünü olumsuz olarak etkileyen bir başka potansiyel faktör olan ANP'nin de AHH'de kalpten salgılanması artar. ANP sadece sıvı uygulamasıyla salınmaz aynı zamanda hipoksik durumda da kardiyomiyositlerden ANP hızla üretilir ve çevre dokulara salınır. Hipoksi/iskeminin sonucunda ROS açığa çıkar. ANP'nin bu süreçlerde hem ROS üretiminde rol oynadığı hem de antioksidan olarak görev aldığı belirtilmiştir (De Vito P. ve diğ., 2010).

Tüm bu bilgiler ışığında çalışmamızda aynı anemik düzeyde iki farklı hemodilüsyon yöntemi olan ANH ve AHH karşılaştırıldı. Bu amaçla sıçan modelinde %25 hematokrit olacak şekilde normovolemik ve hipervolemik modellerde hemodinamik ölçümler yapılmış ve deney sonunda alınan serum ve böbrek dokusu örneklerinden; rutin biyokimya (laktat, üre, kreatinin, BUN), oksidatif stres (malondialdehit, iskemi modifiye albumin), inflamasyon (tümör nekroz faktör alfa), glikokaliks hasarı (sindekan-1, sialik asit), atriyal natriüretik peptit ve katekolaminler değerlendirilmiştir.



3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARININ GENEL ÖZELLİKLERİ

İ.Ü. Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan alınan izinden sonra (373279), deney hayvanları İ.Ü. Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nden temin edildi. Çalışmamızda ortalama 371,3 g ağırlığında toplamda 12 adet Albino Wistar erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar deney gününe kadar herhangi bir kısıtlama yapmadan %50 nem oranı olan, 23-24 °C oda ısısında, standart pellet yemle beslenip, musluk suyu içirildi ve 12 saat aydınlık - 12 saat karanlık olacak şekilde aydınlatma ortamında barındırıldı.

3.2. CERRAHİ PROTOKOL

Sodyum pentotal (70 mg/kg i.p.) ile anestezi sağlandıktan sonra hayvanlar sırtüstü pozisyonda operasyon masasına yatırıldı. Vücut sıcaklığı rektal prob ile ölçülerek 37°C'de sabit tutuldu. Ardından trakeostomi yapıldı. Hayvanların solunumu deney boyunca spontan ventilasyon ile sağlandı. Daha sonra 0,9 mm çapında polietilen kateter kullanılarak deney boyunca sistemik arteriel basıncın takibi için karotid arter, kan örneği alınması için femoral arter ve sıvı uygulamaları için femoral ven kanülasyonları yapıldı. Karotid artere yerleştirilen kanüle bağlanan basınç transdüseri ile basınç dalgaları gerçek zamanlı olarak kaydedildi (Biopac MP45). Operasyon bitimini takiben 20 dk hemodinamik stabilizasyon için beklendi.

3.3. HEMODİLÜSYON MODELLERİ

3.3.1. Akut Normovolemik Hemodilüsyon

Cerrahi stresin bitmesinin ardından femoral arterden (1 mL/dak) kan çekilirken aynı hızda femoral venden %6 HES uygulanarak verildi ve bu uygulama süresi hedef hematokrit %25 oluncaya kadar devam edildi. Aralıklı hematokrit ölçümü kapiler tüpler ile yapıldı.

3.3.2. Akut Hipervolemik Hemodilüsyon

Cerrahi stresin bitmesinin ardından femoral ven aracılığıyla kan almadan 1ml/dk hızında doğrudan %6 HES damar içine enjekte edildi. Yine uygulama esnasında femoral arterden alınacak kanların ölçülmesiyle hedef hematokrit %25'e ulaşmak amaçlandı.

3.3.3. Gruplar

Akut Normovolemik Hemodilüsyon Grubu (ANH) (n=6): Hemodinamik stabilizasyonun sağlanmasından sonra kolloid türevi (%6 HES) ile normovolemik hemodilüsyon uygulanan ve hedef hematokrite ulaştıktan sonra toplam 30 dakika takip edilmiş hayvanlardan oluşmaktadır.

Akut Hipervolemik Hemodilüsyon Grubu (AHH) (n=6): Hemodinamik stabilizasyonun sağlanmasından sonra kolloid türevi (%6 HES) ile hipervolemik hemodilüsyon uygulanan ve hedef hematokrite ulaştıktan sonra toplam 30 dakika takip edilmiş hayvanlardan oluşmaktadır.

Hemodinamik stabilizasyonun sağlanmasından hemen sonra (T0), sıvı uygulamasının sonunda (yaklaşık 60-90 dk sonunda hedef hematokrit 25'e ulaşınca kadar, T1) ve hedef hematokrite ulaştıktan 30. dakikanın sonunda (T2) olmak üzere hayvanlardan kan örnekleri alındı. Bu zaman noktalarında hemodinamik parametreler ölçüldü. Ayrıca normovolemik hemodilüsyon yapmak için alınan kan miktarları ve uygulanan sıvı miktarları da kaydedildi. Ardından intrakardiyak kan alımı yoluyla sıçanlar sakrifiye edilerek; böbrek doku örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinde hematokrit düzeyleri ölçüldü. Kan örnekleri 5 dakika 5000 rpm'de santrifüj yapıldı, elde edilen süpernatantlar ve alınan böbrek dokuları (böbrek doku örneklerinin ağırlık ölçümü yapıp, %0,9'luk NaCl çözeltisiyle yıkandıktan sonra) biyokimyasal ölçümlerin yapılacağı güne kadar -20°C'de ölçüm gününe kadar saklandı.

3.4. HEMODİNAMİK ÖLÇÜMLER

T0, T1 ve T2 zaman noktalarında arteriyel basınç sinyallerinden sistolik basınç (SB) ve diyastolik basınç (DB) değerleri kaydedildi. Nabız değerleri elde edilen sinyallerde 1 dakikadaki dalga tepesi üzerinden hesaplandı. Ortalama arteriyel basınç (OAB) ilgili formüle göre hesaplandı:

$$\text{OAB (mmHg)} = \frac{2}{3} \text{ Diyastolik basınç} + \frac{1}{3} \text{ Sistolik basınç}$$

3.5. HOMOJENİZASYON

Böbrek dokuları 1:10 (w/v) oranında PBS (fosfat tampon solüsyonu; pH 7,4) ile teflon başlıklı homojenizator yardımıyla homojenize edildi. Elde edilen homojenizatlar 3000 g'de 10 dk santrifüj yapıldı ve süpernatantları toplandı. Toplanan süpernatantlar biyokimyasal ölçümler için kullanıldı.

3.6. BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER

3.6.1. Total Protein Tayini

Total protein düzeyinin ölçümü Bradford yöntemine göre homojenat ve serum örneklerinde yapıldı (Bradford MM., 1976). Bu yöntem Coomassie Brilliant Blue ile hazırlanan Bradford ayracının farklı konsantrasyonlardaki proteinlere bağlanarak oluşan değişik renklerin spektroskopik ölçülmesi ilkesine dayanır. Artan konsantrasyonlarda protein standartları hazırlanıp standart eğri çizildikten sonra örneklerdeki protein içeriği eğride yerine konularak bulundu. Ölçüm; örnekler üzerine 50 kat Bradford ayracı koyulduktan sonra 340 nm’de yapıldı.

3.6.2. Serum Keratinin, Üre, Laktat, BUN Tayini

Serum laktat (mmol/L), kreatinin (mg/dL), üre (mg/dL) ve BUN (mg/dL) düzeyleri otoanalizör ile ölçüldü.

3.6.3. Serbest Hemoglobin Tayini

Serbest hemoglobin tayini farklı dalga boylarında spektrofotometrik yöntem kullanılarak yapıldı (Noe DA., 1984).

Kimyasallar:

0,942 M Sodyum karbonat (Na_2CO_3)

Ölçüm:

Serum örnekleri 11 kat 0,942 M Na_2CO_3 ile dilüye edilip ve 415, 380 ve 470 nm’de ölçümler yapılarak yöntemde kullanılan formülde (Serbest hemoglobin (g/dL)= $1,65 \times A_{415} - 0,93 \times A_{380} - 0,73 \times A_{470}$) yerine konularak bulundu.

3.6.4. Sialik Asit Tayini

Sialik asit düzeylerinin belirlenmesi için spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır (Sydow G., 1985).

Kimyasallar:

%60'lık stok 8,3 mL perklorik asit çözeltisi 91,7 mL distile suyla tamamlanarak %5'lik perklorik asit çözeltisi hazırlandı.

Ehrlich çözeltisi kullanıma hazır olarak satın alındı.

Ölçüm:

0,2 ml örnek 1,5 mL %5 perklorik asitle muamele edildikten sonra 5 dakika 100°C'de inkübe edildi. Soğutulduktan sonra 2500 g'de 4 dakika boyunca santrifüj edildi. Daha sonra süpernatanta 0,2 ml Ehrlich çözeltisi eklendi ve 15 dakika daha 100°C'de inkübe edildi. Son olarak 1 mL distile su eklenip 525 nm'de spektrofotometrik okuma yapıldı. Elde edilen değerler standart eğri üzerinden hesaplanarak sialik asit konsantrasyonları (ng/mL) belirlendi.

3.6.5. Malondialdehit (MDA) Tayini

MDA'nın TBA (tiyobarbitürik asit) ile sıcak ortamda pembe renk oluşturmaları ve bunun da spektroskopik ölçüm ile değerlendirilmesi ilkesine dayanan bir ölçümdür (Buege JA. ve Aust SD., 1978).

Kimyasallar:

Öncelikle %15'lik trikloro asetik asit (TCA) hazırlamak için 15 g TCA, 0,25 N 100 mL HCl (hidroklorik asit) içersinde çözüldü. Daha sonra %0,375'lik tiyobarbitürik asit (TBA) hazırlamak için 0,375 gr TBA 0,25 N 100 mL HCl içersinde çözüldü. Çözeltiler +4°C'de saklandı.

Ölçüm:

250 µL serum, 1000 µL stok çözelti ile işlem yapıldıktan sonra 15 dakika beklendi. Daha sonra 10 dakika 100°C su banyosunda inkübe edildi ve son olarak 1000 g'de santrifüj edildikten sonra süpernatant toplanarak 535 nm'de spektroskopik okuma gerçekleştirildi.

MDA'nın ekstinksiyon kat sayısı literatürde $1,56 \times 10^6 \text{ l} \times (\text{mol cm})^{-1}$ olarak belirlenmiş olup Lambert-Beer ($A = \epsilon c l$) denkleminde absorbans değeri yerine koyularak MDA konsantrasyonu (mmol/L) hesaplandı. A= absorbans; ϵ = ekstinksiyon kat sayısı; l= ışık yolu.

$$A = \epsilon c l$$

3.6.6. İskemi Modifiye Albumin (IMA) Tayini

İskemi sonucu bozulan albumin yapısının kobalt II ile verdiği reaksiyon sonucu oluşan rengin spektrofotometrik olarak okunması ilkesine dayanan bir ölçümdür (Bar-Or A. ve diğ., 2000).

Kimyasallar:

%0,1 Kobalt klorür (CoCl_2); 0,1 g kobalt klorür tartılıp 10 mL distile suda çözülür.

Ditiyotritol (DTT); 15 mg DTT tartılıp 10 mL distile suda çözülür.

%0,9 Sodyum klorür (NaCl); 0,9 g NaCl tartılıp 100 mL suda çözülür.

Serumlara örnek ve körde 40 μL 'ye 40 μL oranında %0,1 CoCl_2 di 10 dakika beklendi. Daha sonra 10 μL 1,5 mg/mL DTT karıştırıldı ve 2 dakika renk değişimi için beklendi. Renk değişiminin ardından NaCl eklenip 470 nm'de ölçüm yapıldı. Örneklerin absorbans değerlerinden körlerin absorbans değerlerinin çıkarılmasıyla IMA düzeyi (Absorbans ünite) bulundu.

3.6.7. ELISA Yöntemi Kullanılarak Yapılan Ölçümler

$\text{TNF-}\alpha$ (pg/mL), epinefrin (pg/mL), norepinefrin (ng/mL), ANP (pg/mL) (Ebioscience) ve sindekan-1 (ng/mL) (Elabscience) düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. Standart eğrisi çizildikten sonra elde edilen absorbanslardan konsantrasyon değerleri hesaplanmıştır.

3.6.8. Islak/Kuru Ağırlık Ölçümleri

Islak/kuru ağırlık oranlarını tespit etmek için böbrek dokuları tartıldıktan sonra 48 saat 80 $^{\circ}\text{C}$ de etüvde bekletildi ve bu süre sonunda alınan tüm dokular tekrar tartıldı ve oranlandı (Stephens KE. ve diğ., 1988).

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Hemodinamik ve biyokimyasal ölçümlere ait veri setleri normal dağılıma uygunluğunun test edilmesini takiben ortalama $\pm$ standart hata (S.E.M.) olarak sunuldu. Ardından aynı zaman noktasında farklı gruplar eşleştirilmemiş t (unpaired t), grupların farklı zaman noktaları ise

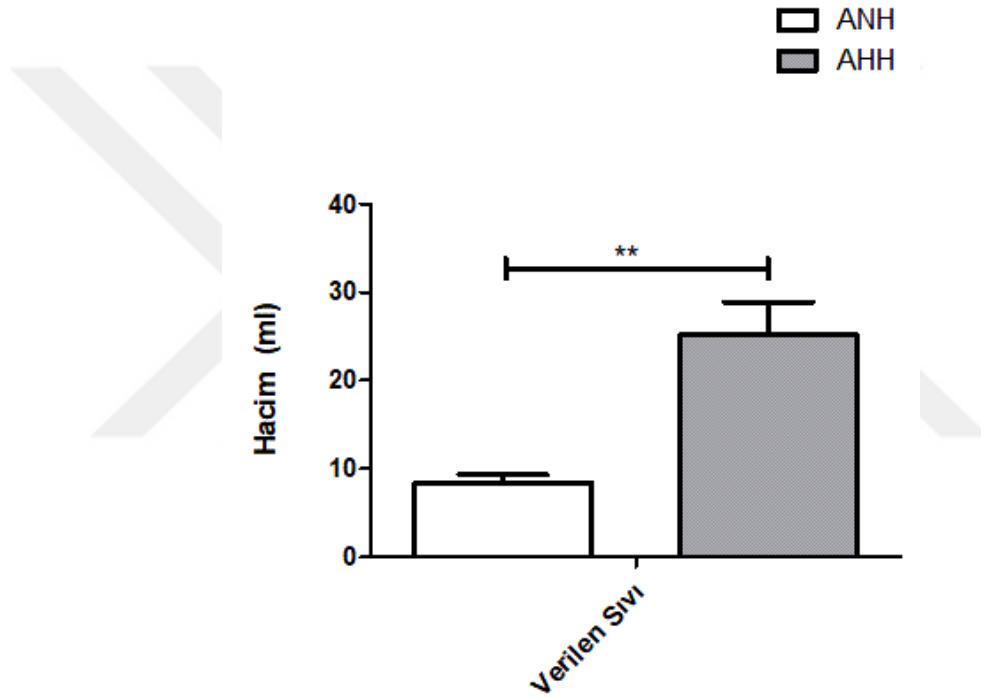
eşleştirilmiş (paired t) t testi ile karşılaştırıldı. İstatistiksel analiz programı olarak GraphPad Prism (v6.0.ABD) kullanıldı ve $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. UYGULANAN SIVI HACMİ BULGULARI

Uygulanan sıvı hacimlerine ait bulgular Şekil 4.1’de görülmektedir. ANH ve AHH gruplarında verilen sıvı hacmi değerleri arasında anlamlı fark bulundu (ANH: $8,4 \pm 0,9$ mL ve AHH: $25,3 \pm 3,7$ mL; $p < 0,01$).



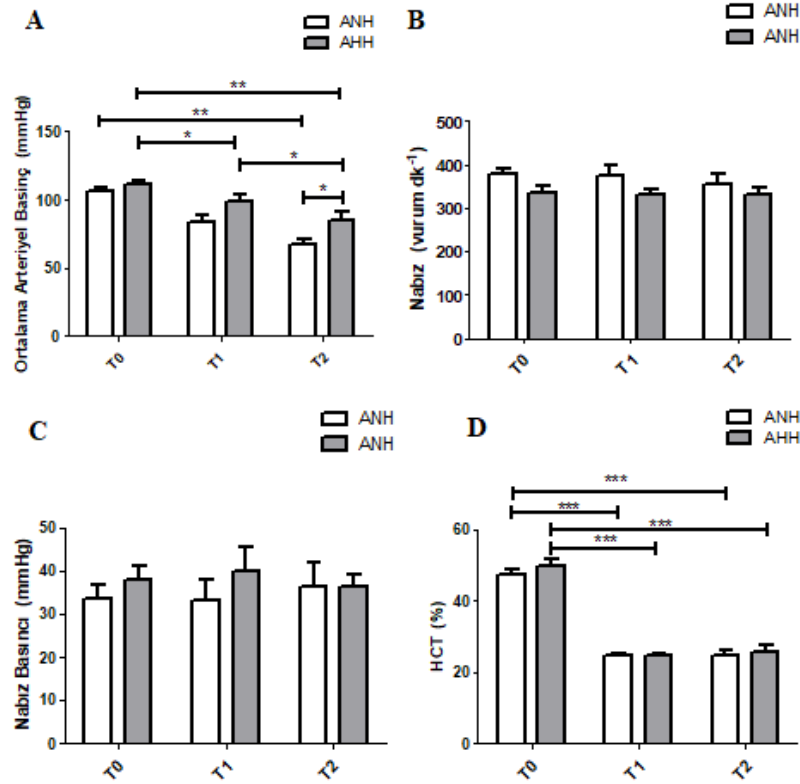
Şekil 4.1: Hemodilüsyon modelini oluşturmak üzere kullanılan toplam sıvı hacimleri (** $p < 0,01$).

4.2. SİSTEMİK HEMODİNAMİK VE HEMATOKRİT BULGULARI

ANH ve AHH gruplarına ait hemodinamik bulgular Şekil 4.2’de görülmektedir. Ölçülen parametrelerin başlangıç düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. Ortalama arteriyel kan basıncı ANH grubunda T0 ($106,1 \pm 2,9$ mmHg) ile T2 ($67,1 \pm 4,1$ mmHg) zaman noktasında anlamlı farklı bulundu ($p < 0,01$). AHH grubunda ise T0 zaman noktası ($111,3 \pm 2,2$ mmHg); T1 ($98,2 \pm 5,2$ mmHg; $p < 0,05$) ve T2 zaman noktasında ($84,6 \pm 5,7$ mmHg; $p < 0,01$) anlamlı farklı bulundu. Ortalama arteriyel basınç değerleri gruplar arası karşılaştırıldığında T1 zaman noktasında anlamlı olarak farklı bulunmazken, T2 zaman

noktasında anlamlı olarak farklı bulundu ($p<0,05$) (Şekil 4.2 A). Nabız ve nabız basıncı değerleri tüm zaman noktalarında ve gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı (Şekil 4.2 B,C).

Hematokrit değerleri her iki grupta T1 ve T2 düzeyleri, T0 zaman noktasına göre anlamlı farklı bulundu ($p<0,01$), ancak T0 (ANH: $47,5\pm1,6$ ve AHH: $50,2\pm1,8$) zaman noktası; T1 (ANH: $24,8\pm0,4$ ve AHH: $25,0\pm0,4$) ve T2 (ANH: $25,0\pm1,0$ ve AHH: $25,9\pm1,8$) zaman noktalarında gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı (Şekil 4.2 D).



Şekil 4.2: Tüm zaman noktalarında gruplara ait ortalama arteriyel basınç (A) , nabız (B), nabız basıncı (C), hematokrit (D) düzeyleri (* $p<0,05$, ** $p<0,01$ ve *** $p<0,001$)

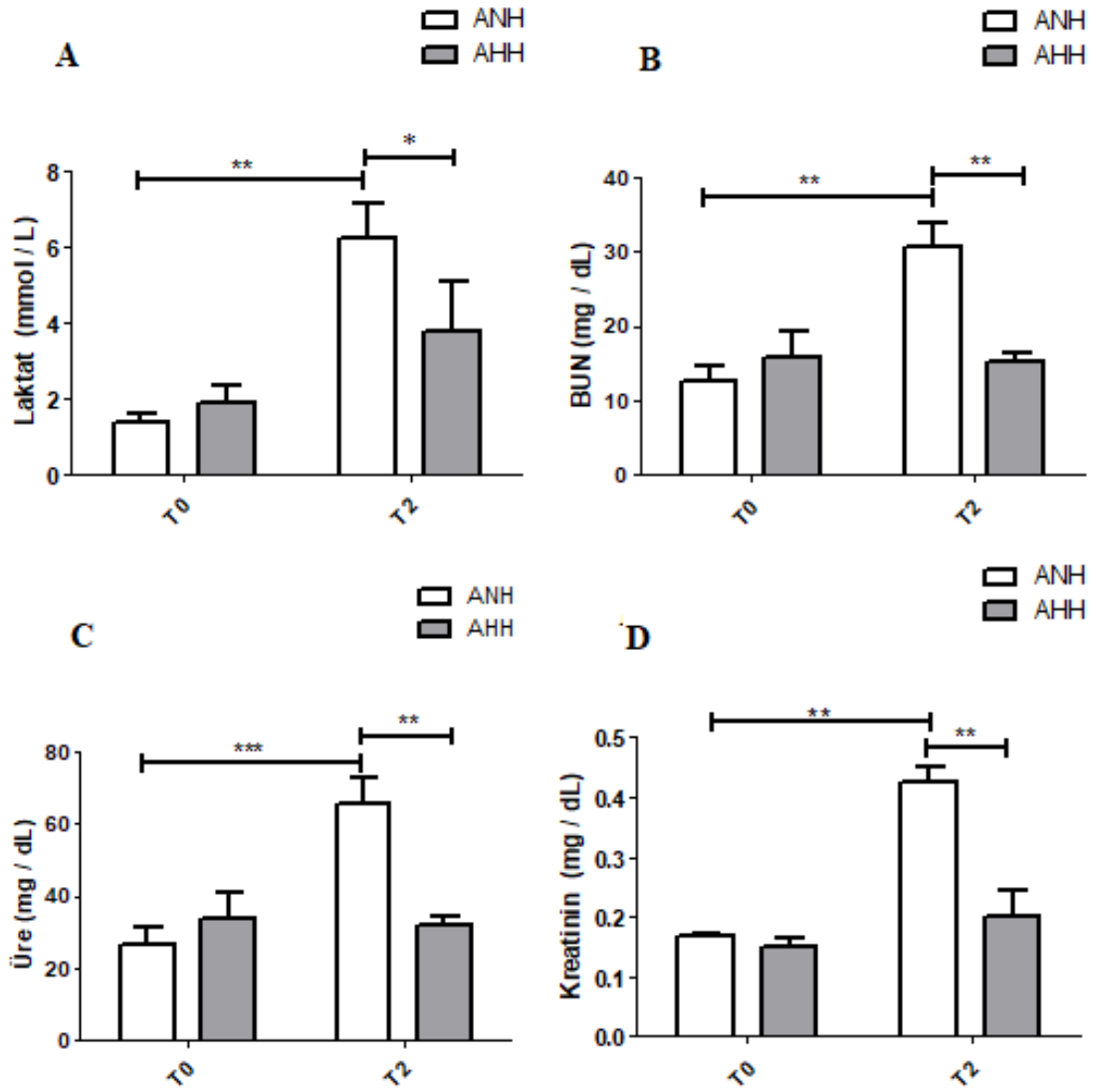
4.3. BİYOKİMYASAL BULGULAR

4.3.1. Rutin Biyokimya Bulguları

Rutin biyokimya bulguları Şekil 4.3' te görülmektedir. Serum laktat, üre, BUN ve kreatinin düzeyleri başlangıç zaman noktasında gruplar arasında farklı bulunmadı. AHH grubunda serum laktat, üre, BUN ve kreatinin düzeyleri başlangıç zaman noktasına göre T2 zaman

noktasında anlamlı farklı bulunmazken, ANH grubunda T2 zaman noktasında serum laktat (T0: $1,3 \pm 0,2$ mmol/L ve T2: $6,2 \pm 0,9$ mmol/L; $p < 0,01$), üre (T0: $26,4 \pm 4,7$ mg/dL ve T2: $65,6 \pm 7,0$ mg/dL; $p < 0,001$), BUN (T0: $12,5 \pm 2,1$ mg/dL ve T2: $30,6 \pm 3,2$ mg/dL; $p < 0,01$) ve kreatinin (T0: $0,17 \pm 0,02$ mg/dL ve T2: $0,43 \pm 0,03$ mg/dL; $p < 0,01$) düzeyleri T0 zaman noktasında göre anlamlı bulundu. T2 zaman noktasında serum laktat (ANH: $6,2 \pm 0,9$ mmol/L ve AHH: $3,7 \pm 1,3$ mmol/L; $p < 0,05$), üre (ANH: $65,6 \pm 7,0$ mg/dL ve AHH: $32,1 \pm 2,4$ mg/dL; $p < 0,01$), BUN (ANH: $30,6 \pm 3,2$ mg/dL ve AHH: $15,1 \pm 1,2$ mg/dL; $p < 0,01$) ve kreatinin (ANH: $0,43 \pm 0,03$ mg/dL ve AHH: $0,20 \pm 0,04$ mg/dL; $p < 0,01$) düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklı bulundu (Şekil 4.3 A, B, C, D).



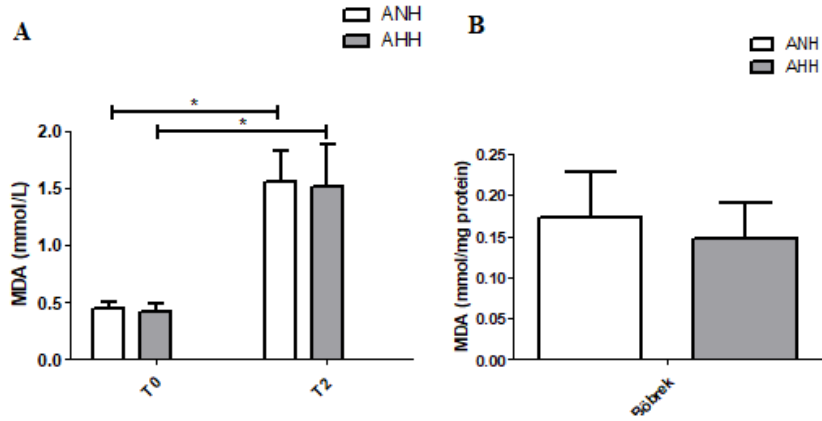


Şekil 4.3: T0 ve T2 Zaman noktalarında grupların serum laktat (A) , BUN (B) , üre (C) ve kreatinin (D) düzeyleri (**p<0,01, ve ***p<0,001)

4.3.2. Oksidatif Stres ve İnflamasyon ile İlgili Bulgular

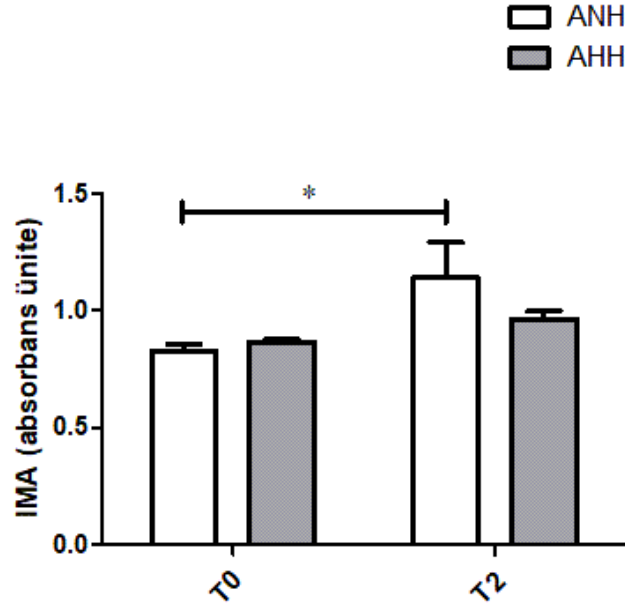
Serum-doku MDA, IMA ve serbest hemoglobin düzeyleri Şekil 4.4, 4.5 ve 4.6'da görülmektedir. Serum MDA düzeyleri T2 zaman noktasında gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı olarak fark bulunmadı. Buna karşılık her iki grubun T2 zaman noktasında (ANH: $1,6 \pm 0,2$ mmol/L ve AHH: $1,5 \pm 0,3$ mmol/L) serum MDA düzeyleri kendi başlangıç zaman

noktalarına göre (ANH: $0,4 \pm 0,05$ mmol/L ve AHH: $0,4 \pm 0,06$ mmol/L) anlamlı farklı bulundu ($p < 0,05$) (Şekil 4.5 A). Böbrek dokusu MDA düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında ANH grubu ($0,2 \pm 0,05$ mmol/mg protein) AHH grubuna ($0,1 \pm 0,04$ mmol/mg protein) göre anlamlı bulunmadı (Şekil 4.5 B).



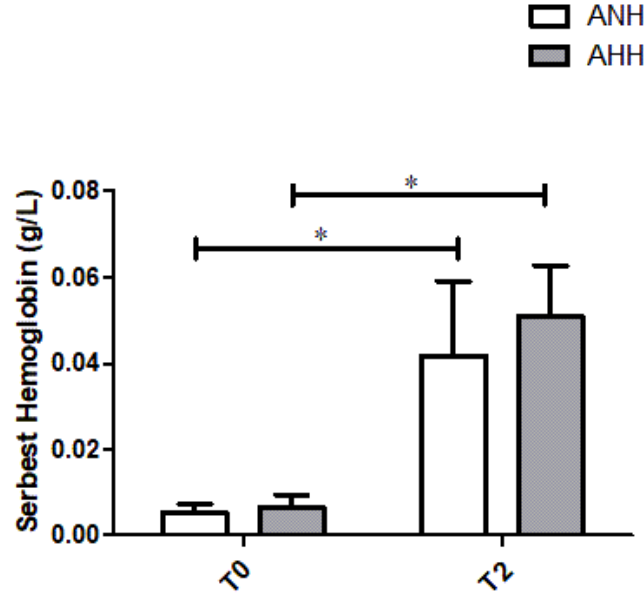
Şekil 4.4: T0 ve T2 zaman noktalarına göre serum (A) ve böbrek dokusunda MDA (B) düzeyleri (* $p < 0,05$)

Serum IMA düzeyleri başlangıç zaman noktasında gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. Buna karşılık sadece ANH grubunun T2 zaman noktasında ($1,139 \pm 0,152$ absorbans ünite) T0 zaman noktasına ($0,826 \pm 0,030$ absorbans ünite) göre anlamlı fark bulundu ($p < 0,05$).



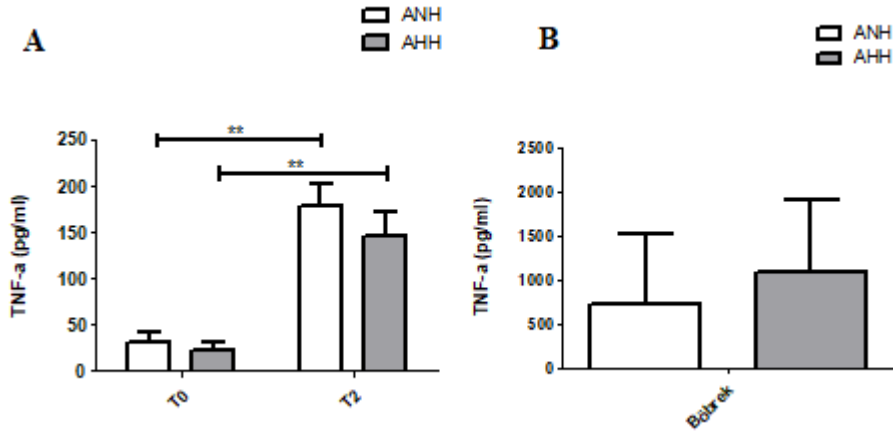
Şekil 4.5: T0 ve T2 zaman noktalarında serum IMA düzeyleri (*p<0,05)

Serbest hemoglobin düzeyleri başlangıç zaman noktasında gruplar arasında anlamlı fark göstermedi. Aynı şekilde T2 zaman noktasında da gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmadı. Buna karşılık hem ANH (T0: $0,005 \pm 0,002$ g/L; T2: $0,042 \pm 0,017$ g/L) hem de AHH (T0: $0,007 \pm 0,003$ g/L; T2: $0,051 \pm 0,012$ g/L) grubu kendi başlangıç noktalarına göre anlamlı fark bulundu ($p < 0,05$) (Şekil 4.6).



Şekil 4.6: T0 ve T2 zaman noktalarında serbest hemoglobin düzeyleri (*p<0,05)

Serum ve doku TNF- α düzeyleri Şekil 4.7’de görülmektedir. Serum TNF- α düzeyleri başlangıç zaman noktasında gruplar arasında anlamlı fark göstermedi. Aynı şekilde T2 zaman noktasında da gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmadı. Buna karşılık hem ANH (T0: 31,4 $\pm$ 11,0 pg/mL; T2: 177,1 $\pm$ 25,7 pg/mL) hem de AHH (T0: 22,2 $\pm$ 8,3 pg/mL; T2: 147,0 $\pm$ 25,2 pg/mL) grubu kendi başlangıç noktalarına göre anlamlı fark bulundu (p<0,01) (Şekil 4.x). Böbrek dokusu TNF- α düzeyleri karşılaştırıldığında ANH grubu (729,1 $\pm$ 319,8 pg/mL) AHH grubuna (1089,5 $\pm$ 333,2 pg/mL) göre anlamlı fark göstermedi (Şekil 4.7 B).

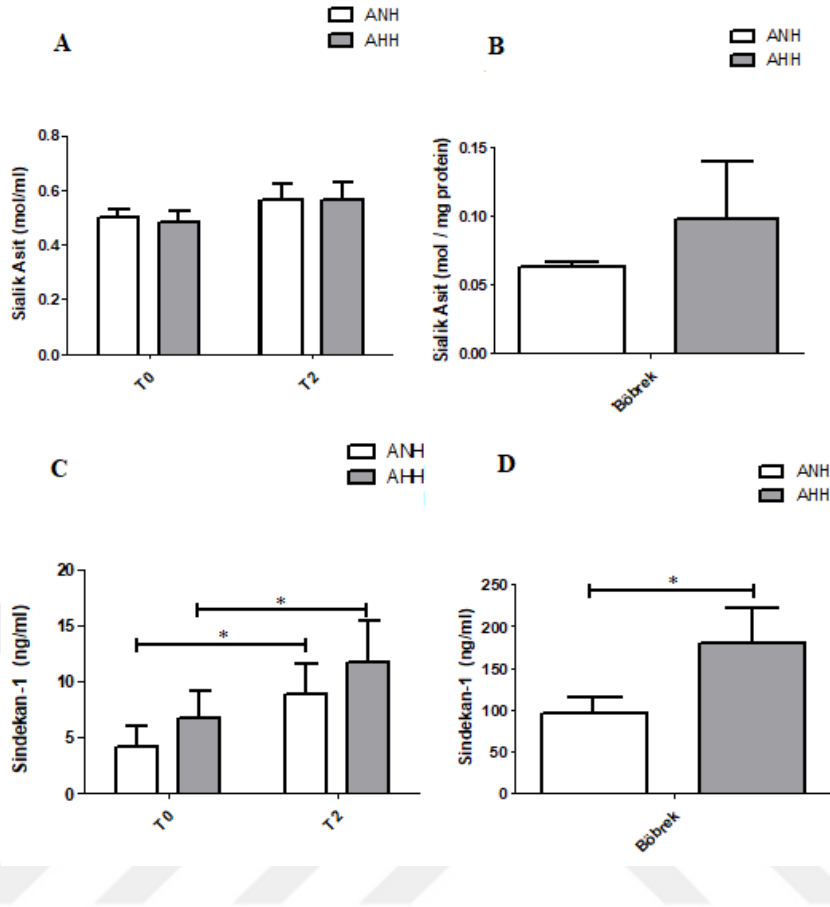


Şekil 4.7: T0 ve T2 zaman noktalarında serum (A) ve böbrek dokusunda (B) TNF- α düzeyleri (**p<0,01)

4.3.3. Glikokaliks Bütünlüğü ile İlgili Bulgular

Glikokaliks bileşenlerinin düzeyleri ile ilgili bulgular Şekil 4.8’de görülmektedir. Serum sialik asit ve sindekan-1 düzeyleri başlangıç zaman noktasında gruplar arasında anlamlı fark göstermedi. Bununla birlikte serum sialik asit düzeyleri T2 zaman noktasında da anlamlı fark görülmedi. Serum sindekan-1 düzeyleri ise gruplar arasında olmasa da grupların kendi T0 zaman noktalarında göre anlamlı fark görüldü ANH T0: $4,2 \pm 1,8$ T2: $8,9 \pm 2,7$ $p < 0,05$; AHH T0: $6,6 \pm 2,4$ T2: $11,6 \pm 3,6$; $p < 0,05$) (Şekil 4.8 A,C).

Böbrek dokusunda sialik asit düzeyleri karşılaştırıldığında ANH grubu ($0,063 \pm 0,004$ mol/mg protein) AHH grubuna göre ($0,1 \pm 0,04$ mol/mg protein) anlamlı olmayan fark görüldü (Şekil 4.9 B). Böbrek dokusunda sindekan-1 düzeyleri karşılaştırıldığında ANH grubu ($95,4 \pm 19,6$ ng/mL) AHH grubuna göre ($180,6 \pm 40,9$ ng/mL) anlamlı fark gösterdi ($p < 0,05$) (Şekil 4.8 B,D).



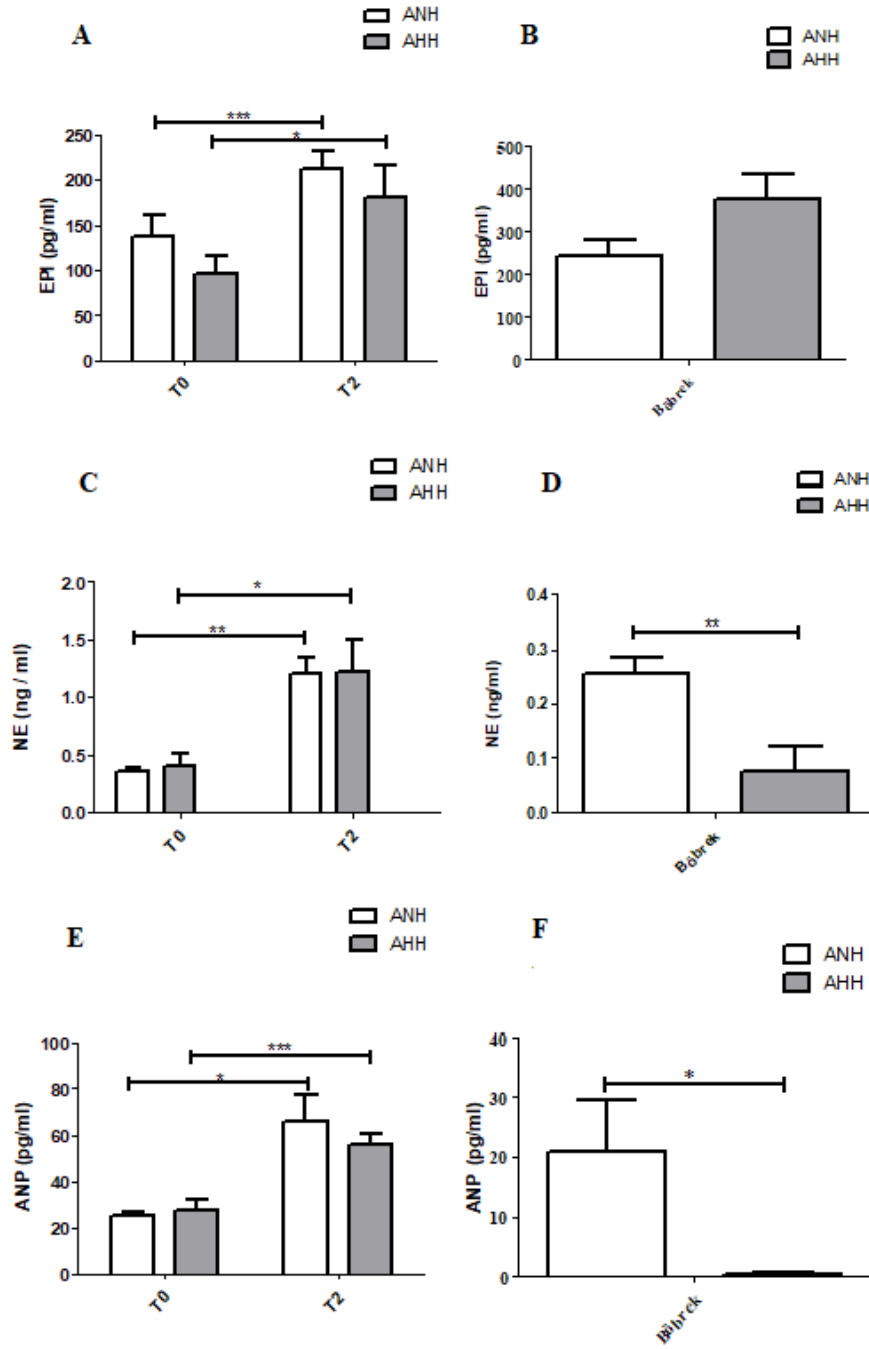
Şekil 4.8: T0 ve T2 zaman noktasında grupların serum (A,C) ve böbrek dokusunda (B,D) sialik asit ve sindekan düzeyleri. (*p<0,05)

4.3.4. Katekolaminler ve ANP ile İlgili Bulgular

Serum ve doku epinefrin, norepinefrin ve ANP düzeyleri Şekil 4.9’da görülmektedir. Serum epinefrin, norepinefrin ve ANP düzeyleri başlangıç zaman noktasında gruplar arasında anlamlı fark göstermedi. Aynı şekilde T2 zaman noktasında da serum epinefrin, norepinefrin ve ANP düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmadı. Buna karşılık serum epinefrin düzeyleri hem ANH (T0: 136,4±23,4 pg/mL; T2: 210,8±20,9 pg/mL; (p<0,001) hem de AHH (T0: 95,1±19,4 pg/mL; T2: 180,5±36,0 pg/mL; (p<0,05) grubu kendi başlangıç noktalarına göre anlamlı fark bulundu. Serum norepinefrin düzeyleri de hem ANH (T0: 0,3±0,02 ng/mL; T2: 1,2±0,1 ng/mL; (p<0,01) hem de AHH (T0: 0,4±0,1 ng/mL; T2: 1,2±0,3 ng/mL; (p<0,05) grubunda kendi başlangıç noktalarına göre anlamlı fark bulundu. Aynı şekilde serum ANP düzeyleri de hem ANH (T0: 25,1±1,6 pg/mL; T2: 66,2±11,6 pg/mL; (p<0,05) hem de AHH (T0: 27,1±5,1 pg/mL; T2: 55,3±5,2 pg/mL; (p<0,001) grubunda kendi başlangıç noktalarına göre anlamlı fark bulundu (Şekil 4.9 A,C,E).

Böbrek dokusu epinefrin düzeyleri karşılaştırıldığında; ANH grubu ($242,4 \pm 37,8$ pg/mL) AHH grubuna ($374,6 \pm 58,1$ pg/mL) göre anlamlı fark bulunmadı (Şekil 4.9 B). Böbrek dokusu norepinefrin düzeyleri karşılaştırıldığında; ANH grubu ($0,2 \pm 0,03$ ng/mL), AHH grubuna ($0,08 \pm 0,04$ ng/mL) göre anlamlı olarak farklı bulundu ($p < 0,01$) (Şekil 4.9 D). Böbrek dokusu ANP düzeyleri karşılaştırıldığında ANH ($20,7 \pm 8,7$ pg/mL), AHH grubuna ($0,4 \pm 0,4$ pg/mL) göre anlamlı olarak farklı bulundu ($p < 0,05$) Şekil (4.9 F).

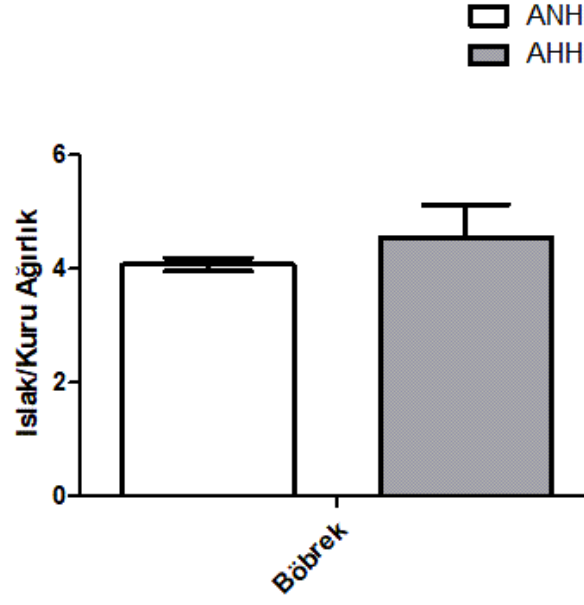




Şekil 4.9: T0 ve T2 zaman noktalarına göre serum (A,C,E) ve böbrek dokusunda (B,D,F) epinefrin, norepinefrin ve ANP düzeyleri (*p<0,05, **p<0,01 ve ***p<0,001)

4.3.5. Böbrek Islak/Kuru Ağırlık Bulguları

Böbrek ıslak/kuru ağırlık oranları gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.10).



Şekil 4.10: Gruplar arası böbrek ıslak/kuru ağırlık karşılaştırması

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamız sıçanlarda hemodilüsyon tekniklerini (normovolemik ve hipervolemik) hedef hematokrit 25 seviyesinde karşılaştıran ve oluşan anemik durumun hücresel ve böbrek üzerine etkilerini gösteren ilk çalışmadır. Bu amaçla endotelial glikokaliks bütünlüğü, oksidatif stres ve inflamasyon süreçleri değerlendirilmiş ve ANP ve katekolaminlerin katkısı anlaşılmaya çalışılmıştır. Başlıca bulgularımız: 1) Her iki hemodilüsyon tekniği hemoliz (serbest hemoglobin), sistemik inflamasyon (TNF-a), oksidatif stres (MDA), glikokaliks bozulması (sindekan-1, sialik asit), ANP ve katekolamin seviyelerinde (epinefrin, norepinefrin) artışa neden oldu. Ayrıca, 2) akut normovolemik hemodilüsyon kan basıncını düşürüp, sistemik hipoksiye ve böbrek fonksiyonuna etki ederek böbrek üzerinde strese neden olmaktadır. 3) Buna karşılık, akut hipervolemik hemodilüsyonda ise hedef hematokriti elde etmek için daha fazla sıvıya ihtiyaç duyulmaktadır.

Cerrahide ve yoğun bakımda arteriyel basıncı düzenlemek ve perfüzyonu korumak için sıvılar yaygın olarak kullanılmaktadır. Kristaloit veya kolloid sıvıların uygulanması hemodilüsyona yol açar. Çalışmamızda sıçanlarda iki farklı hemodilüsyon modeli uygulanmıştır. Akut normovolemik hemodilüsyon (ANH) cerrahi girişimden ve anestezi işleminden önce kanın alınması ve aynı miktarda sıvı uygulamasıyla oluşur. Akut hipervolemik hemodilüsyonda (AHH) ise kan alınmadan doğrudan sıvı uygulanarak kan sulandırılır (Mielke LL. ve diğ., 1997; Balasubramanian V. ve diğ., 2019; Rehm M. ve diğ., 2000; Kumar R. ve diğ., 2002).

Sıvı uygulamaları, kan transfüzyonunun yerini alabileceği düşünülen önemli bir teknik olsa da, işlemin kanın seyreltilmesi sonucu hücresel hasara yol açabileceği ve hatta uzak organ hasarına neden olabileceği gösterilmiştir. Hastaların sıvı statüsü tam olarak bilinmediğinden dolayı sıvı uygulamasının sonucu önce ANH ve sonrasında AHH olarak ortaya çıkabilir. Her iki durumda da, damar içini döşeyen endotel hücrelerinin yapısı, fizyolojisi, iyon dengesinin bozulması ve endotelin mekanik kuvvetlere maruz kalması nedeniyle bozulur (Torres Filho IP. ve diğ., 2016). Bir çalışmaya göre omurilik iskemisi olan hastalarda HES ile yapılan ANH, nörolojik hasarın artışına neden olmuştur (Kim J. ve diğ., 2012). Ayrıca AHH böbrek üzerindeki etkileri travma sonrası hastalarda incelenmiş ve uygulama sonrasında görülen

solunum yetmezliği, hipertansiyon, artmış kalp debisi ve renal perfüzyondaki düşüşün hipervolemiye bağlı olduğu tahmin edilmektedir (Lucas CE. ve diğ., 1977).

ANH'de kan dilüye oldukça hematokrit azalır ve anemi derinleşir. Anemi belirtilerinden sonra hipoksi belirtileri ortaya çıkar (Johannes T. ve diğ., 2006). AHH'de de önce dilüsyona bağlı olarak anemi görülür, ancak damarda sıvı hacmindeki artıştan sonra damar gerginleşir ve sürece atriyal natriüretik peptit (ANP) aracılı hasar mekanizmaları katılır (Jacob M. ve diğ., 2013).

Çalışmamızda her iki grupta sistemik hemodinamik parametrelerden ortalama arteriyel basınç (OAB) ve nabız ölçülmüştür. ANH grubunda OAB zaman içinde kademeli olarak azalırken, nabız sabit kalmıştır. Ayrıca ANH grubunda yüksek laktat düzeyi de görülmüştür. Derin hemodilüsyonun etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada da OAB'nin azaldığı çalışmamıza benzer şekilde gözlemlenmiştir (Cabrales P. ve diğ., 2005). Kontrolsüz kanamada hemodilüsyon ve kan basıncı ilişkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada da OAB değerleri sıvı uygulamalarıyla eski haline döndürülememiş aksine düşüş gözlemlenmiştir (Pawelczyk NS. ve diğ., 2013). Ayrıca domuzlarda yapılan çalışmalara göre ANH sonrası oluşan hipotansiyon renal fonksiyon bozuklukları ve ödem oluşumu ile ilişkilendirilmiştir (Konrad FM. ve diğ., 2013). Yine farklı bir çalışmada perfüzyon yetersizliği durumlarında ortaya çıkan akut böbrek hasarının serum BUN ve üre seviyelerindeki artış ile gösterilmiştir. Ayrıca ANH sırasında anemi ve hipoksi belirteçleri birlikte gösterilmiştir (Kei T. ve diğ., 2017). Yine farklı bir çalışmada kardiyopulmoner bypass sırasında da yapılan hemodilüsyon sonucu oluşan anemide de serum kreatinin seviyelerinin artış gösterdiği bilinmektedir. Kreatinin artışının sonucu olarak renal fonksiyon kaybı yaşandığı da gözlemlenmiştir (Habib RH. ve diğ., 2005). Çalışmamızda da benzer olarak düşük arteriyel basıncın görüldüğü ANH'de laktat düzeyinin yüksek çıkması ANH'nin hipoksiye neden olduğunu açıkca göstermektedir. Bu oluşan hipoksi doğrudan böbrek fonksiyonlarını etkilemektedir. Çalışmamızda bu durum ANH'de serum laktat, kreatinin, BUN ve üre seviyeleri AHH'ye göre yüksek bulunarak gösterilmiştir.

HES gibi kolloid türevi sıvıların uygulama sonrasında % 60'ının damardan sızarak ödeme yol açtığı bilinmektedir. Bu ödemin endotel glikokaliks yapısının bozulmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Rehm M. ve diğ., 2000). Ödem düzeyine göre organ fonksiyonlarının bozulması da söz konusu olabilir. Ancak, aksi çalışmalar da gösterilmiştir. Kardiyopulmoner bypass işlemi sırasında verilen HES sıvısının etkilerinin incelendiğı bir diğer çalışmada

akciğerde ödem oluşumu gözlenmiş, ancak böbrek fonksiyon bozukluğuna rastlanmamıştır (Fujii Y. ve diğ., 2017). Çalışmamızda hem ANH'de hem de AHH'de glikokaliks unsurlarının kanda yüksek bulunması sıvı uygulamasının kendisinin doğrudan etkisini göstermektedir. Dolayısıyla glikokaliks hasarına gerilmenin doğrudan bir katkısı olmayabilir. Çalışmamızda ayrıca böbrek dokusunda ıslak kuru ağırlık oranı ölçülmüş ve normovolemik ve hipervolemik hemodilüsyon grupları arasında fark bulunmamıştır. Islak kuru ağırlık oranı doku ödem düzeyinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Fujii Y. ve diğ., 2017). Çalışmamızda her iki grupta kontrole göre sindekan düzeylerinin artması ve ANH yapılan gruba ait dokuda sindekan düzeyinin düşmesi; sıvı uygulamasının doğrudan glikokaliks hasarını göstermekte hatta ANH'de hasarın daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak ıslak kuru ağırlık oranı ile bu durum örtüşmemektedir. Bu durum son zamanlarda iddia edildiği gibi glikokaliksin ödem ile ilişkili olmadığı (Guerci P. ve diğ., 2018) ya da ödem oluşması için daha fazla bileşenin yıkılması gerektiği şeklinde açıklanabilir. Nitekim çalışmamızda sialik asit düzeylerinde fark görülmemiştir. Farklı olarak şu şekilde bir süreçte gerçekleşmiş olabilir: Endotel yüzey katmanındaki onkotik basınç farklılıkları sıkça düzenlenir ve çok hızlı bir şekilde dengeye ulaşır. Böylece daha az sıvı filtre edilmiş olur. Fonksiyonel bir vasküler bariyer, sağlam bir glikokalikse ve bunun plazma türevli proteinlerle, özellikle albüminle etkileşime dayanır. Dolaşımdaki albümin kaybı, glikokaliksin kaybına eşlik eder, bu da sıvının dokulara ulaşmasına neden olur. Hayvan modellerinde, albümin, HES'e kıyasla net sıvı ekstravazasyonunu azaltmıştır (Jacob M. ve diğ., 2006). Bu bilgiler ışığında ANH'de albumin kaybı olduğu düşünülürse glikokaliks hasarının mekanizması kayıp albumin ile ilişkilendirilebilir.

Hemodilüsyon, eritrositlerde ozmotik strese neden olup hemoliz gerçekleşebilir. Yapılan çalışmalarda hemoliz sonrasında hücresel hasar gösterilmiştir (Shih AV. ve diğ., 2014). Çalışmamızda her iki grupta da serbest hemoglobinin plazmada artışı görülmüştür. Ancak bu artışın birbirinden farklı olmaması sıvının gerilme olsada olmasada doğrudan kendi etkisiyle hemolize neden olduğunu işaret etmektedir.

Serbest hemoglobin doğrudan oksidatif strese neden olabileceğine dair çalışmalar bulunmaktadır (Plewes K. ve diğ., 2017). Çalışmamızda her iki grupta lipid peroksidasyon belirteci olan MDA ölçülmüş ve her iki grupta da yüksek bulunmuştur. Doku düzeyinde ise bir fark görülmemiştir. Özellikle yapılan diğer çalışmalarda da uzun süreli sıvı uygulamaları

lipit peroksidasyonunu arttırarak hasarı oluşturduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda hidroksil radikalleri de ölçümü yapılmış ve böbrek dokusunda hidroksil radikalleri HES uygulmasıyla arttığı görülmüştür (Correa TD. ve diğ., 2015; Morariu AM. ve diğ., 2006). Dolayısıyla sıvı uygulmasının yarattığı ozmotik stres sonucunda serbestlenen hemoglobin lipid peroksidasyonuna neden olmuş olabilir.

Çalışmamızda iskemi ve oksidatif stres belirteci olan IMA düzeyleri de ölçülmüştür. İskemik modifiye albumin (IMA) hücre nekrozundan önce akut iskemi tespitinde kullanılmaktadır. Çalışmamızda ANH'de IMA seviyeleri başlangıç seviyelerine göre artış göstermektedir. Yapılan çalışmalara göre de IMA'nın artışı renal iskemik hasar için erken dönemde bir biyobelirteç olarak kullanılabilir (Kocan H. ve diğ., 2014). Artmış IMA seviyeleri kritik böbrek hastalıklarında da gözlenmiş ve raporlarda IMA düzeylerinin; hemoglobin, kreatinin ve laktat düzeyleri ile kuvvetli bir şekilde korelasyon içinde olduğu görülmüştür (Cichota LC. ve diğ., 2008).

TNF- α gibi kemokinlerin artışı endotel yüzey tabakasının önemli ölçüde bozulmasına neden olur (Brettnner F. ve diğ., 2012). Bu çalışmamızda TNF- α düzeyleri iki hemodilüsyon tekniğinde de yükselmiş ve oksidatif strese aracılık ettiği düşünülmektedir. TNF- α böbrek endotelinde Rho-GTPazlarla işbirliği yaparak bariyerin bütünlüğünü koruduğu gösterilmiştir (Tan RJ. ve diğ., 2016). Endotel hücrelerde Rac1 ve RhoA dengesine bağlı olarak hücre geçirgenliği düzenlenir. Bir molekül çalışırken, diğerini inhibe eder bu sayede hücreler arası bağlantı ve glikokaliks katmanı düzenlenir. TNF- α için endotelial cAMP seviyelerinin azalmasının, RhoA'nın aktivasyonundan önce gelen Rac1'in inaktivasyonuna neden olduğu ve bunun da bariyer yıkımıyla alakalı olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda cAMP'nin artışına bağlı olarak TNF- α bağımlı kapiller geçirgenlik normale döner. P190RhoGAP'ın, hücreler arası sıkı bağlantılarda p120-katenin yoluyla lokalize olduğu ve Rac1'in bu yolu kullanarak RhoA'yı inhibe ettiği gösterildiğinden, Rac1'in etkisizleştirilmesi ve sıkı bağlantı bozulmasının, inflamasyonda bariyer bozulmasına katkıda bulunabilecek RhoA aktivasyonuna neden olması mümkündür (Radeva MY. ve Waschke J., 2017). Çalışmamızda her iki sıvı uygulaması ANP'nin Rac1-RhoA molekülleriyle oksidatif stres yolağında işbirliği yaptığını düşündürmektedir (De Vito P. ve diğ., 2010). Bütün bunlar ışığında ANP ve TNF- α bağımlı glikokaliks hasarını tespit etmiş bulunmaktayız.

Yapılan çalışmalarda AHH'nin neden olduğu stres durumunda ANP salgılanmasının, glikokaliks yıkımının ile inflamasyonun başlaması ve intravasküler dengeyi bozan olayların ortaya çıkmasıyla sonuçlandığı görülmüştür (Chappell D. ve diğ., 2014). Ancak çalışmamızda, glikokaliks parçalanması, inflamasyon ve hatta ANP'nin kanda artışı ANH'de de ortaya çıktığını gördük. Bu durumda, gerilime değil, intravasküler çevreye yabancı bir maddenin yani sıvının eklenmesinin olayları başlatabileceği düşündürmektedir. Yapılan diğer çalışmalarda da sıvıların ve hemodilüsyon uygulamalarının inflamasyonu oluşturabileceği gösterilmiştir (Kahvejian M. ve diğ., 2013; Morariu AM. ve diğ., 2006). ANP ile birlikte norepinefrin gibi katekolaminlerin düzeyi vasküler stresin ve inflamasyonun arttığı durumlarda artar (Ostrowski SR. ve diğ., 2013b). Ancak, ANP'nin adrenerjik hücrelerde kalsiyum duyarlılığını azaltarak katekolamin salınımını baskıladığı da gözlemlenmiştir (Kanwal S. ve diğ., 1997). Öte yandan, plazmadaki ANP seviyesi arttıkça, glikokaliks hasarına bağlı olarak katekolamin seviyelerinde paralel bir artış söz konusudur (Ostrowski SR. ve diğ., 2013a). Ayrıca, miyoendokrin hücrelerinde β -adrenerjik reseptörlerin tarafından katekolaminlerin salınmasının, hücre içi kalsiyum artışına bağlı olarak ANP salınımını inhibe ettiği de bilinmektedir (Quan, HX. ve diğ., 2010). Böyle bir durumda damar içi kompliyansı düzenleyen bu iki molekülün birbirine ne zaman zıt yönde etki ettiğinin, ne zaman eş zamanlı olarak arttığının kesin bilgisi yoktur. Dolaşımdaki ve sempatik sinir uçlarından salınan katekolaminlerin (epinefrin, norepinefrin) artışının, kan basıncını arttırdığı ve damarlarda kasılmalara neden olduğu bilinmektedir. Katekolaminler ayrıca endotel glikokaliksin parçalanmasında da rol oynar çünkü kan basıncını arttırırlar. Bu da pulmoner ödeme neden olabilir (Dünser MW. ve diğ., 2009). Stresle glikokaliksin parçalanmasının bir sonucu olarak, glikokaliks parçaları çevrede lokalize inflamasyona neden olabilir ve hücrelerin ile proteinlerin doku içine geçişine izin verir. Bundan dolayı filtrasyon hızı artmış olur. Böylece ödem oluşumuna neden olabilir veya kan dolaşımıyla uzak organlara hasar verebilir. Aksi olarak ortaya çıkan hasara paralel olarak katekolamin seviyesi artabilir. Sıvı uygulamalarındaki bu değişikliklerin bir sonucu olarak, damarda ve çevresinde iskemi benzeri koşullar ve inflamasyon meydana gelir. Sonucunda ise akut ve kronik böbrek hasarında görülen moleküllerle ilişkilendirilmiştir (Xu Y. ve diğ., 2015). Bununla birlikte, bu durumun olduğu koşullar (ne kadar sıvı verilir), verilen sıvının damarda ne oluşturacağı (mikrovasküler fizyolojik) ve ANP, katekolamin ve endotel glikokaliks arasındaki bağlantı hakkında yapılan çalışmalarda kesinlik kazanılmamıştır.

Yapılan bir diğer çalışmada endotelyal glikokaliksin üç ana bileşeninin koroner arter bypass ameliyatı sırasında yıkıldığını göstermektedir. ANP ve inflamatuvar sitokinlerin salınımı ile ilgili zaman diliminde glikokaliks dökülmesi karşılaştırıldığında her iki cerrahi prosedürde büyük olasılıkla dökülmeyi başlatan aracı olarak ANP'yi gösterilmiştir (Bruegger D. ve diğ., 2011). ANP ile glikokaliks yıkımının birbiriyle etkileşimli olabileceği hala tartışılmaktadır.

Makrofajlarda ANP, uyarılabilir siklooksijenaz ve TNF- α gibi sistemleri ve diğer proinflamatuvarları da inhibe edebilir (Kierner AK. ve diğ., 2000; Kierner AK. ve diğ., 2002a). ANP salgılanmasının bu denli yüksek olduğu bu hemodilüsyon durumunda ANP'nin kardiyovasküler sistemde anti-oksidant etki yarattığı da bilinmektedir. Ancak damar endoteli hücrelerinde, ANP, NADPH oksidazı aktive ederek reaktif oksijen türlerinin açığa salınmasına ve pro-oksidant olarak oksidatif stres döngüsünün içerisinde yer almaktadır. NADPH oksidazlar ise Rho-GTPaz-Rac1 hücre bağlantısı sağlayan moleküllerle işbirliği içindedir. TNF- α ve ANP artışına bağlı olan buradaki hücre geçirgenliği ile ilgili olaylar tam anlamıyla çözülememiştir (De Vito P. ve diğ., 2010). ANP, endotel hücrelerinde NPR-A kaynaklı cGMP üretimi üzerinden TNF- α 'nın inflamatuvar etkilerini ortadan kaldırabilir. Bunun yanında, şaperonların ve G-aktin polimerizasyonunun fosforilasyonunu içeren bir sinyalleşme yoluyla ANP, endotelyal geçirgenlik ve sito-iskelet değişiklikleri üzerindeki TNF kaynaklı etkilere karşı koruyucu etkiler de gösterebilir (Kierner AK. ve diğ., 2002b). Artan laktat düzeyini de göz önünde tuttuğumuzda ve ANP'nin bu durumda anti-oksidant mı pro-oksidant olarak mı olaya etki ettiği açıklanamamıştır.

Epinefrin ve norepinefrinin damar endoteline ve glikokaliks yıkımına etkileri tartışılmaktadır. Katekolaminlerin endotele etkisinin aterosklerozun olası başlangıcına neden olduğu düşünülmektedir (Hauss WH. ve diğ., 1990). Bir diğer çalışmada ise sempatik denervasyon sonrası akut travmatik koagülopatili sıçanlarda anti-inflamatuvar ve endotel koruyucu etkiler sağlanmıştır. Bundan yola çıkarak sempatik sistemin ürettiği katekolaminlerin endotele hasar verdiği düşünülmektedir (Xu L. ve diğ., 2015). Yapılan başka bir araştırmanın sonuçlarına göre, eritrositlerin terminal böbrek yetmezliği aşamasında katekolamin biriktirebildiğini göstermektedir ve ek olarak, eritrositlerdeki epinefrin, dopamin seviyeleri, plazmadaki üre birikimine bağlıdır. Ayrıca eritrosit bağımlı katekolamin artışının hemodiyaliz hastalarında mortalite belirleyicisi olduğu düşünülmektedir (Dziedzic M. ve diğ., 2013).

Sonuç olarak:

Çalışmamızda iki hemodilüsyon tipi sıçan modelinde karşılaştırılmış ve ANH ve AHH’de sıvıların doğrudan olumsuz etkileri gösterilmiştir. Bulgularımız normovolemik hemodilüsyonda mikrodolaşımdaki perfüzyon bozukluğunun, hemodilüsyon sonrası akut böbrek hasarının gelişimine katkıda bulunabileceği hipotezini desteklemektedir. Sıvıların kullanımı ve ne kadar kullanılacağı ya da hangi yöntemle kullanılacağı üzerinde durulması bir konudur. ANH yerine AHH’de sistemik vasküler yatağı gererek perfüzyonun verimini garanti etmektedir. Dolayısıyla hemodilüsyonun kaçınılmaz olduğu durumlarda hipervolemik hemodilüsyon böbrek için daha avantajlı olabilir. Ancak dengeli olmayan sıvılarla yapılan hipervolemik durumların uzun vadedeki etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. İleri araştırmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Akki, A., Zhang, M., Murdoch, C., Brewer, A. and Shah, A.M., 2009. NADPH oxidase signaling and cardiac myocyte function. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 47(1), pp.15-22.
- Alphonsus, C.S. and Rodseth, R.N., 2014. The endothelial glycocalyx: a review of the vascular barrier. *Anaesthesia*, 69(7), pp.777-784.
- Awad, S., Allison, S.P. and Lobo, D.N., 2008. The history of 0.9% saline. *Clinical nutrition*, 27(2), pp.179-188.
- Balasubramanian, V., Li, J.K.J., O'Hara, D. and Kaya, M., 2019. Myocardial oxygen balance during acute normovolemic hemodilution: A novel compartmental modeling approach. *Computers in biology and medicine*, 105, pp.16-26.
- Bar-Or, D., Lau, E. and Winkler, J.V., 2000. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia—a preliminary report. *The Journal of emergency medicine*, 19(4), pp.311-315.
- Bayer, O., Reinhart, K., Sakr, Y., Kabisch, B., Kohl, M., Riedemann, N.C., Bauer, M., Settmacher, U., Hekmat, K. and Hartog, C.S., 2011. Renal effects of synthetic colloids and crystalloids in patients with severe sepsis: a prospective sequential comparison. *Critical care medicine*, 39(6), pp.1335-1342.
- Beards, S.C., Watt, T., Edwards, J.D., Nightingale, P. and Farragher, E.B., 1994. Comparison of the hemodynamic and oxygen transport responses to modified fluid gelatin and hetastarch in critically ill patients: a prospective, randomized trial. *Critical care medicine*, 22(4), pp.600-605.
- Becker, B.F., Chappell, D. and Jacob, M., 2010. Endothelial glycocalyx and coronary vascular permeability: the fringe benefit. *Basic research in cardiology*, 105(6), pp.687-701.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), pp.248-254.
- Brenner, B.M., Ballermann, B.J., Gunning, M.E. and Zeidel, M.L., 1990. Diverse biological actions of atrial natriuretic peptide. *Physiological reviews*, 70(3), pp.665-699.
- Brettner, F., Chappell, D. and Jacob, M., 2012. The concept of the glycocalyx—Facts that influence perioperative fluid management. *Trends in Anaesthesia and Critical Care*, 2(4), pp.191-198.
- Bruegger, D., Jacob, M., Rehm, M., Loetsch, M., Welsch, U., Conzen, P. and Becker, B.F., 2005. Atrial natriuretic peptide induces shedding of endothelial glycocalyx in coronary

vascular bed of guinea pig hearts. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 289(5), pp.H1993-H1999.

- Bruegger, D., Schwartz, L., Chappell, D., Jacob, M., Rehm, M., Vogeser, M., Christ, F., Reichart, B. and Becker, B.F., 2011. Release of atrial natriuretic peptide precedes shedding of the endothelial glycocalyx equally in patients undergoing on-and off-pump coronary artery bypass surgery. *Basic research in cardiology*, 106(6), pp.1111-1121.
- Brunkhorst, F.M., Engel, C., Bloos, F., Meier-Hellmann, A., Ragaller, M., Weiler, N., Moerer, O., Gruendling, M., Oppert, M., Grond, S. and Olthoff, D., 2008. Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis. *New England Journal of Medicine*, 358(2), pp.125-139.
- Buege, J.A. and Aust, S.D., 1978. [30] Microsomal lipid peroxidation. In *Methods in enzymology* (Vol. 52, pp. 302-310). Academic Press.
- Burch, J.M., Ortiz, V.B., Richardson, R.J., Martin, R.R., Mattox, K.L. and Jordan Jr, G.L., 1992. Abbreviated laparotomy and planned reoperation for critically injured patients. *Annals of surgery*, 215(5), p.476.
- Cabrales, P., Tsai, A.G., Winslow, R.M. and Intaglietta, M., 2005. Effects of extreme hemodilution with hemoglobin-based O₂ carriers on microvascular pressure. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 288(5), pp.H2146-H2153.
- Chappell, D., Bruegger, D., Potzel, J., Jacob, M., Brettner, F., Vogeser, M., Conzen, P., Becker, B.F. and Rehm, M., 2014. Hypervolemia increases release of atrial natriuretic peptide and shedding of the endothelial glycocalyx. *Critical care*, 18(5), p.538.
- Chowdhury, A.H., Cox, E.F., Francis, S.T. and Lobo, D.N., 2012. A randomized, controlled, double-blind crossover study on the effects of 2-L infusions of 0.9% saline and plasma-lyte® 148 on renal blood flow velocity and renal cortical tissue perfusion in healthy volunteers. *Annals of surgery*, 256(1), pp.18-24.
- Cichota, L.C., Moresco, R.N., Duarte, M.M.M.F. and Silva, J.E.P.D., 2008. Evaluation of ischemia modified albumin in anemia associated to chronic kidney disease. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 22(1), pp.1-5.
- Corrêa, T.D., Rocha, L.L., Pessoa, C.M.S., Silva, E. and Assuncao, M.S.C.D., 2015. Fluid therapy for septic shock resuscitation: which fluid should be used?. *Einstein (Sao Paulo)*, 13(3), pp.462-468.
- De Vito, P., 2014. Atrial natriuretic peptide: an old hormone or a new cytokine?. *Peptides*, 58, pp.108-116.
- De Vito, P., Incerpi, S., Pedersen, J.Z. and Luly, P., 2010. Atrial natriuretic peptide and oxidative stress. *Peptides*, 31(7), pp.1412-1419.
- Dünser, M.W., Ruokonen, E., Pettilä, V., Ulmer, H., Torgersen, C., Schmittinger, C.A., Jakob, S. and Takala, J., 2009. Association of arterial blood pressure and vasopressor

- load with septic shock mortality: a post hoc analysis of a multicenter trial. *Critical care*, 13(6), p.R181.
- Dziedzic, M., Bednarek-Skublewska, A., Solski, J. and Kapka-Skrzypczak, L., 2014. Plasma and erythrocyte relationship of catecholamines in haemodialysis patients. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 21(3).
- Engoren, M.C., Habib, R.H., Zacharias, A., Schwann, T.A., Riordan, C.J. and Durham, S.J., 2002. Effect of blood transfusion on long-term survival after cardiac operation. *The Annals of thoracic surgery*, 74(4), pp.1180-1186.
- Feng, X., Liu, J., Yu, M., Zhu, S. and Xu, J., 2007. Hydroxyethyl starch, but not modified fluid gelatin, affects inflammatory response in a rat model of polymicrobial sepsis with capillary leakage. *Anesthesia & Analgesia*, 104(3), pp.624-630.
- Finfer, S., Liu, B., Taylor, C., Bellomo, R., Billot, L., Cook, D., Du, B., McArthur, C. and Myburgh, J., 2010. Resuscitation fluid use in critically ill adults: an international cross-sectional study in 391 intensive care units. *Critical care*, 14(5), p.R185.
- Finfer, S., SAFE Study Investigators, 2004. A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit. *New England Journal of Medicine*, 350(22), pp.2247-2256.
- Floras, J.S., 1995. Inhibitory effect of atrial natriuretic factor on sympathetic ganglionic neurotransmission in humans. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 269(2), pp.R406-R412.
- Franz, A., Bräunlich, P., Gamsjäger, T., Felfernig, M., Gustorff, B. and Kozek-Langenecker, S.A., 2001. The effects of hydroxyethyl starches of varying molecular weights on platelet function. *Anesthesia & Analgesia*, 92(6), pp.1402-1407.
- Fujii, Y., Tanabe, T., Yamashiro, T., Shirai, M., Takewa, Y. and Tatsumi, E., 2017. Effect of Hydroxyethyl Starch Priming on the Systemic Inflammatory Response and Lung Edema after Cardiopulmonary Bypass in a Rat Model. *ASAIO Journal*, 63(5), pp.618-623.
- Gan, T.J., 2011. Colloid or crystalloid: any differences in outcomes. *IARS Review Course Lectures*, pp.7-12.
- Guerci, P., Ergin, B., Uz, Z., Ince, Y., Westphal, M., Heger, M. and Ince, C., 2019. Glycocalyx Degradation Is Independent of Vascular Barrier Permeability Increase in Nontraumatic Hemorrhagic Shock in Rats. *Anesthesia & Analgesia*.
- Habib, R.H., Zacharias, A., Schwann, T.A., Riordan, C.J., Engoren, M., Durham, S.J. and Shah, A., 2005. Role of hemodilutional anemia and transfusion during cardiopulmonary bypass in renal injury after coronary revascularization: implications on operative outcome. *Critical care medicine*, 33(8), pp.1749-1756.
- Hare, G.M., 2014. Tolerance of anemia: understanding the adaptive physiological mechanisms which promote survival. *Transfusion and Apheresis Science*, 50(1), pp.10-12.

- Hauss, W.H., BAUCH, H.J. and Schulte, H., 1990. Adrenaline and noradrenaline as possible chemical mediators in the pathogenesis of arteriosclerosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 598(1), pp.91-101.
- Henry, C.B. and Duling, B.R., 1999. Permeation of the luminal capillary glycocalyx is determined by hyaluronan. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 277(2), pp.H508-H514.
- Higgins, D.F., Kimura, K., Bernhardt, W.M., Shrimanker, N., Akai, Y., Hohenstein, B., Saito, Y., Johnson, R.S., Kretzler, M., Cohen, C.D. and Eckardt, K.U., 2007. Hypoxia promotes fibrogenesis in vivo via HIF-1 stimulation of epithelial-to-mesenchymal transition. *The Journal of clinical investigation*, 117(12), pp.3810-3820.
- Jacob, M., Bruegger, D., Rehm, M., Welsch, U., Conzen, P. and Becker, B.F., 2006. Contrasting effects of colloid and crystalloid resuscitation fluids on cardiac vascular permeability. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 104(6), pp.1223-1231.
- Jacob, M., Saller, T., Chappell, D., Rehm, M., Welsch, U. and Becker, B.F., 2013. Physiological levels of A-, B-and C-type natriuretic peptide shed the endothelial glycocalyx and enhance vascular permeability. *Basic research in cardiology*, 108(3), p.347.
- Johansson, P.I., Stensballe, J., Rasmussen, L.S. and Ostrowski, S.R., 2011. A high admission syndecan-1 level, a marker of endothelial glycocalyx degradation, is associated with inflammation, protein C depletion, fibrinolysis, and increased mortality in trauma patients. *Annals of surgery*, 254(2), pp.194-200.
- Jones, J.G. and Wardrop, C.A., 2000. Measurement of blood volume in surgical and intensive care practice. *British journal of anaesthesia*, 84(2), pp.226-235.
- Jones, S.B., Whitten, C.W. and Monk, T.G., 2004. Influence of crystalloid and colloid replacement solutions on hemodynamic variables during acute normovolemic hemodilution. *Journal of clinical anesthesia*, 16(1), pp.11-17.
- Kahvejian, M., Aya, D.O., Holms, C., Oliveira, C.M., Costa, J.A.J. and Tabacchi, D.F., 2013. Modulation of inflammation during acute normovol
- Kampmeier, T., Rehberg, S. and Ertmer, C., 2014. Evolution of fluid therapy. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*, 28(3), pp.207-216.
- Kanwal, S., Elmquist, B.J. and Trachte, G.J., 1997. Atrial natriuretic peptide inhibits evoked catecholamine release by altering sensitivity to calcium. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 283(2), pp.426-433.
- Kei, T., Mistry, N., Tsui, A.K., Liu, E., Rogers, S., Doctor, A., Wilson, D.F., Desjardins, J.F., Connelly, K., Mazer, C.D. and Hare, G.M., 2017. Experimental assessment of oxygen homeostasis during acute hemodilution: the integrated role of hemoglobin concentration and blood pressure. *Intensive care medicine experimental*, 5(1), p.12.

- Kiemer, A.K., Hartung, T. and Vollmar, A.M., 2000. cGMP-mediated inhibition of TNF- α production by the atrial natriuretic peptide in murine macrophages. *The Journal of Immunology*, 165(1), pp.175-181.
- Kiemer, A.K., Lehner, M.D., Hartung, T. and Vollmar, A.M., 2002. Inhibition of cyclooxygenase-2 by natriuretic peptides. *Endocrinology*, 143(3), pp.846-852.
- Kiemer, A.K., Weber, N.C., Fürst, R., Bildner, N., Kulhanek-Heinze, S. and Vollmar, A.M., 2002. Inhibition of p38 MAPK activation via induction of MKP-1: atrial natriuretic peptide reduces TNF- α -induced actin polymerization and endothelial permeability. *Circulation research*, 90(8), pp.874-881.
- Kim, J., Hwang, J., Huh, J., Nahm, S.F., Lim, C., Park, S. and Hahn, S., 2012. Acute normovolemic hemodilution can aggravate neurological injury after spinal cord ischemia in rats. *Anesthesia & Analgesia*, 114(6), pp.1285-1291.
- Kocan, H., Citgez, S., Yucetas, U., Yucetas, E., Yazici, M., Amasyali, A.S., Unluer, E. and Tasci, A.I., 2014, December. Can ischemia-modified albumin be used as an objective biomarker for renal ischemic damage? An experimental study with wistar albino rats. In *Transplantation proceedings* (Vol. 46, No. 10, pp. 3326-3329). Elsevier.
- Konrad, F.M., Mik, E.G., Bodmer, S.I., Ates, N.B., Willems, H.F., Klingel, K., de Geus, H.R., Stolker, R.J. and Johannes, T., 2013. Acute normovolemic hemodilution in the pig is associated with renal tissue edema, impaired renal microvascular oxygenation, and functional loss. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 119(2), pp.256-269.
- Kumar, R., Chakraborty, I. and Sehgal, R., 2002. A prospective randomized study comparing two techniques of perioperative blood conservation: isovolemic hemodilution and hypervolemic hemodilution. *Anesthesia & Analgesia*, 95(5), pp.1154-1161.
- Levick, J.R. and Michel, C.C., 2010. Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle. *Cardiovascular research*, 87(2), pp.198-210.
- Licker, M., Ellenberger, C., Dierra, J., Kalangos, A., Diaper, J. and Morel, D., 2005. Cardioprotective effects of acute normovolemic hemodilution in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Chest*, 128(2), pp.838-847.
- Lipowsky, H.H., 2012. The endothelial glycocalyx as a barrier to leukocyte adhesion and its mediation by extracellular proteases. *Annals of biomedical engineering*, 40(4), pp.840-848.
- Lucas, C.E., Ledgerwood, A.M., Shier, M.R. and Bradley, V.E., 1977. The renal factor in the post-traumatic "fluid overload" syndrome. *The Journal of trauma*, 17(9), pp.667-676.
- Marx, G., Cope, T., McCrossan, L., Swaraj, S., Cowan, C., Mostafa, S.M., Wenstone, R. and Leuwer, M., 2004. Assessing fluid responsiveness by stroke volume variation in mechanically ventilated patients with severe sepsis. *European journal of anaesthesiology*, 21(2), pp.132-138.

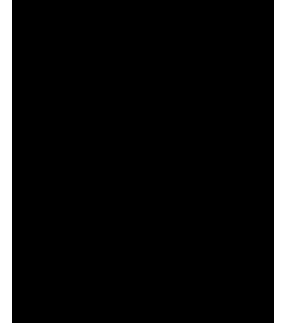
- McIlroy, D.R. and Kharasch, E.D., 2003. Acute intravascular volume expansion with rapidly administered crystalloid or colloid in the setting of moderate hypovolemia. *Anesthesia & Analgesia*, 96(6), pp.1572-1577.
- Mielke, L.L., Entholzner, E.K., Kling, M., Breinbauer, B.E., Burgkart, R., Hargasser, S.R. and Hipp, R.F., 1997. Preoperative acute hypervolemic hemodilution with hydroxyethylstarch: an alternative to acute normovolemic hemodilution. *Anesthesia & Analgesia*, 84(1), pp.26-30.
- Miller, D.J., 2004. Sydney Ringer; physiological saline, calcium and the contraction of the heart. *The Journal of physiology*, 555(3), pp.585-587.
- Morariu, A.M., Maathuis, M.H.J., Asgeirsdottir, S.A., Leuvenink, H.G., Boonstra, P.W., Van Oeveren, W., Ploeg, R.J., Molema, I. and Rakhurst, G., 2006. Acute isovolemic hemodilution triggers proinflammatory and procoagulatory endothelial activation in vital organs: role of erythrocyte aggregation. *Microcirculation*, 13(5), pp.397-409.
- Nieuwdorp, M., van Haeften, T.W., Gouverneur, M.C., Mooij, H.L., van Lieshout, M.H., Levi, M., Meijers, J.C., Holleman, F., Hoekstra, J.B., Vink, H. and Kastelein, J.J., 2006. Loss of endothelial glycocalyx during acute hyperglycemia coincides with endothelial dysfunction and coagulation activation in vivo. *Diabetes*, 55(2), pp.480-486.
- Noe, D.A., Weedn, V. and Bell, W.R., 1984. Direct spectrophotometry of serum hemoglobin: an Allen correction compared with a three-wavelength polychromatic analysis. *Clinical chemistry*, 30(5), pp.627-630.
- Obeidat, M., Obeidat, M. and Ballermann, B.J., 2012. Glomerular endothelium: a porous sieve and formidable barrier. *Experimental cell research*, 318(9), pp.964-972.
- Orbegozo Cortes, D., Rayo Bonor, A. and Vincent, J.L., 2014. Isotonic crystalloid solutions: a structured review of the literature. *British journal of anaesthesia*, 112(6), pp.968-981.
- Ostrowski, S.R., Berg, R.M., Windeløv, N.A., Meyer, M.A., Plovsing, R.R., Møller, K. and Johansson, P.I., 2013. Coagulopathy, catecholamines, and biomarkers of endothelial damage in experimental human endotoxemia and in patients with severe sepsis: a prospective study. *Journal of critical care*, 28(5), pp.586-596.
- Ostrowski, S.R., Pedersen, S.H., Jensen, J.S., Mogelvang, R. and Johansson, P.I., 2013. Acute myocardial infarction is associated with endothelial glycocalyx and cell damage and a parallel increase in circulating catecholamines. *Critical care*, 17(1), p.R32.
- Pawelczyk, N.S., del Pilar Huby, M., Salsbury, J.R., Baer, L.A., Wang, Y.W.W., Matijevic, N., Holcomb, J.B. and Wade, C.E., 2013. Association of hemodilution and blood pressure in uncontrolled bleeding. *Journal of surgical research*, 184(2), pp.959-965.
- Pechanova, O. and Simko, F., 2009. Chronic antioxidant therapy fails to ameliorate hypertension: potential mechanisms behind. *Journal of hypertension*, 27, pp.S32-S36.

- Penna, C., Mancardi, D., Rastaldo, R. and Pagliaro, P., 2009. Cardioprotection: a radical view: free radicals in pre and postconditioning. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1787(7), pp.781-793.
- Plewes, K., Kingston, H.W., Ghose, A., Maude, R.J., Herdman, M.T., Leopold, S.J., Ishioka, H., Hasan, M.M.U., Haider, M.S., Alam, S. and Piera, K.A., 2017. Cell-free hemoglobin mediated oxidative stress is associated with acute kidney injury and renal replacement therapy in severe falciparum malaria: an observational study. *BMC infectious diseases*, 17(1), p.313.
- Quan, H.X., Jin, J.Y., Wen, J.F. and Cho, K.W., 2010. β 1-Adrenergic receptor activation decreases ANP release via cAMP-Ca²⁺ signaling in perfused beating rabbit atria. *Life sciences*, 87(7-8), pp.246-253.
- Radeva, M.Y. and Waschke, J., 2018. Mind the gap: mechanisms regulating the endothelial barrier. *Acta Physiologica*, 222(1), p.e12860.
- Ranucci, M., Romitti, F., Isgrò, G., Cotza, M., Brozzi, S., Boncilli, A. and Ditta, A., 2005. Oxygen delivery during cardiopulmonary bypass and acute renal failure after coronary operations. *The Annals of thoracic surgery*, 80(6), pp.2213-2220.
- Rehm, M., Haller, M., Orth, V., Kreimeier, U., Jacob, M., Dressel, H., Mayer, S., Brechtelsbauer, H. and Finsterer, U., 2001. Changes in blood volume and hematocrit during acute preoperative volume loading with 5% albumin or 6% hetastarch solutions in patients before radical hysterectomy. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 95(4), pp.849-856.
- Reitsma, S., Slaaf, D.W., Vink, H., Van Zandvoort, M.A. and Oude Egbrink, M.G., 2007. The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 454(3), pp.345-359.
- Rewa, O. and Bagshaw, S.M., 2015. Principles of fluid management. *Critical care clinics*, 31(4), pp.785-801.
- Rojkind, M., Dominguez-Rosales, J.A., Nieto, N. and Greenwel, P., 2002. Role of hydrogen peroxide and oxidative stress in healing responses. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 59(11), pp.1872-1891.
- Schebesta, K. and Kimberger, O., 2012. Crystalloids versus colloids during acute normovolemic anemia: the quest continues... *Critical Care*, 16(3), p.131.
- Shih, A.W., McFarlane, A. and Verhovsek, M., 2014. Haptoglobin testing in hemolysis: measurement and interpretation. *American journal of hematology*, 89(4), pp.443-447.
- Stephens, K.E., Ishizaka, A., Larrick, J.W. and Raffin, T.A., 1988. Tumor necrosis factor causes increased pulmonary permeability and edema. *Am Rev Respir Dis*, 137(6), pp.1364-70.
- Sydow, G., 1985. A simplified quick method for determination of sialic acid in serum. *Biomedica biochimica acta*, 44(11-12), pp.1721-1723.

- Tan, R.J., 2016. TNF ROCKs the boat as the kidney endothelium springs a leak. *Physiological reports*, 4(1).
- Thurau, K. and Boylan, J.W., 1976. Acute renal success: The unexpected logic of oliguria in acute renal failure. *The American journal of medicine*, 61(3), pp.308-315.
- Todd, S.R., Malinoski, D., Muller, P.J. and Schreiber, M.A., 2007. Lactated Ringer's is superior to normal saline in the resuscitation of uncontrolled hemorrhagic shock. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 62(3), pp.636-639.
- Torres Filho, I.P., Torres, L.N., Salgado, C. and Dubick, M.A., 2016. Plasma syndecan-1 and heparan sulfate correlate with microvascular glycocalyx degradation in hemorrhaged rats after different resuscitation fluids. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 310(11), pp.H1468-H1478.
- Tunny, T.J., Bachmann, A.W. and Gordon, R.D., 1988. Response of atrial natriuretic peptide to adrenaline and noradrenaline infusion in man. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 15(4), pp.299-303.
- van den Berg, B.M., Nieuwdorp, M., Stoes, E.S. and Vink, H., 2006. Glycocalyx and endothelial (dys) function: from mice to men. *Pharmacological Reports*, 58, p.75.
- Wang, P., Li, Y. and Li, J., 2009. Hydroxyethyl starch 130/0.4 prevents the early pulmonary inflammatory response and oxidative stress after hemorrhagic shock and resuscitation in rats. *International immunopharmacology*, 9(3), pp.347-353.
- Williams, E.L., Hildebrand, K.L., McCormick, S.A. and Bedel, M.J., 1999. The effect of intravenous lactated Ringer's solution versus 0.9% sodium chloride solution on serum osmolality in human volunteers. *Anesthesia & Analgesia*, 88(5), pp.999-1003.
- Xu, Y., Xie, Y., Shao, X., Ni, Z. and Mou, S., 2015. L-FABP: A novel biomarker of kidney disease. *Clinica Chimica Acta*, 445, pp.85-90.
- Young, J.B., Utter, G.H., Schermer, C.R., Galante, J.M., Phan, H.H., Yang, Y., Anderson, B.A. and Scherer, L.A., 2014. Saline versus Plasma-Lyte A in initial resuscitation of trauma patients: a randomized trial. *Annals of surgery*, 259(2), pp.255-262.
- Zois, N.E., Bartels, E.D., Hunter, I., Kousholt, B.S., Olsen, L.H. and Goetze, J.P., 2014. Natriuretic peptides in cardiometabolic regulation and disease. *Nature Reviews Cardiology*, 11(7), p.403.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Muzaffer Utku ÇAKIR
Doğum Yeri	ŞİŞLİ
Doğum Tarihi	23.06.1993
Uyruğu	☒ T.C. ☐ Diğer:
Telefon	05393852066
E-Posta Adresi	colenchaer@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	16.06.2015

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji
Programı	Zooloji

Makale ve Bildiriler	