

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

AKUT ALT EKSTREMİTE İSKEMİ-REPERFÜZYON
SONRASINDA GELİŞEN BÖBREK HASARINA
İLOPROST VE LEVOSİMENDANIN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dr. Atalay KARAKAYA

Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2009

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

AKUT ALT EKSTREMİTE İSKEMİ-REPERFÜZYON
SONRASINDA GELİŞEN BÖBREK HASARINA
İLOPROST VE LEVOSİMENDANIN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dr. Atalay KARAKAYA

Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Recep ASLAN

ESKİŞEHİR
2009

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Atalay KARAKAYA'ya ait "Akut alt ekstremitte iskemi-reperfüzyon sonrasında gelişen böbrek hasarına iloprost ve levosimendanın etkilerinin araştırılması" adlı deneysel çalışma jürimiz tarafından Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 29.12.2009

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Recep ASLAN

Üye: Prof. Dr. Bülent TÜNERİR

Üye: Prof. Dr. Sadettin DERNEK

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nun
..... Tarih veSayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zübeyir KILIÇ
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleri ile bana destek veren başta tez danışmanım Prof. Dr. Recep ASLAN olmak üzere tüm hocalarıma, tezimin gerçekleşmesinde yardımlarını esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Emine KASAPOĞLU DÜNDAR'a, Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Öğretim Üyesi Bülent BATMAZ'a, değerli asistan arkadaşlarım ve tüm sağlık personeline teşekkür eder, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

ÖZET

Karakaya, A. Akut alt ekstremite iskemi-reperfüzyon sonrasında gelişen böbrek hasarına iloprost ve levosimendanın etkilerinin araştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2009. 32 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan randomize olarak, eşit sayıda (n=8) dört gruba ayrıldı. Kontrol grubuna laparotomi ve diseksiyon uygulandı. Diğer gruplara uygulanan eşit süre ve stres (180 dakika) sonrasında sol nefrektomi yapıldı. İskemi grubuna laparotomi sonrası infrarenal aortaya mikrovasküler klemp ile 60 dakika iskemi oluşturulduktan sonra 120 dakika reperfüzyon uygulandı, ardından sol nefrektomi yapıldı. İloprost grubuna aynı protokole ilave olarak reperfüzyon esnasında 20ng/kg/dk iloprost infüzyon kuyruk veninden perfüzyatör yardımıyla verildi. Takibinde sol nefrektomi uygulandı. Levosimendan grubuna reperfüzyonda aynı şekilde kuyruk veninden perfüzyatör yardımıyla 15 dakika yükleme (25micg/kg) dozunu takiben, infüzyon (0,2micg/kg/dk) sonrasında sol nefrektomi yapıldı. Böbrek dokuları formaldehit fiksasyonu sonrası Hematoksilen-Eosin ile boyandı. Preparatlar ışık mikroskopunda değerlendirildi. Histopatolojik incelemede kontrol grubu ile iskemi reperfüzyon grubunda anlamlı patolojik değişiklik tesbit edildi. Ödem gruplarda gözlenmediği için değerlendirme dışı bırakıldı. İstatistiksel olarak iloprost grubunda bulanık şişme ve tubuler nekroz anlamlı iken iltihabi hücre infiltrasyonu ve konjesyon anlamlı değildi. Levosimendan grubunda bulanık şişme, tubuler nekroz, iltihabi hücre infiltrasyonu anlamlı konjesyon istatistiki olarak anlamsız tesbit edildi. Sonuç olarak bizim çalışmamıza göre; iloprost ve levosimendanın vazodilatatör, sitoprotektif etkinlik göstererek, mikrosirkülasyonu koruyarak akut alt ekstremite iskemilerinde reperfüzyon sonrası böbrekte gelişen iskemik hasarı azalttığı düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Bulanık şişme, tubuler nekroz, iltihabi hücre infiltrasyonu, iloprost, levosimendan

SUMMARY

Karakaya A. Investigation of the effect of iloprost versus levosimendan on renal injury triggered by ischemia-reperfusion. Eskisehir Osmangazi University Cardiovascular Surgery Department. Expertise Thesis. Eskisehir 2009. 32

Sprague-Dawley female rats were randomly divided into four equal groups (n=8). Laparotomy and dissection were performed on control group. Left nephrectomy operations were performed to rats of other three groups after 180 minutes. In group of ischemia, micro vascular clamps were put on infrarenal aorta and 60 minutes of ischemia was supplied and than 120 minutes of reperfusion was applied. While same protocol was applied to iloprost group, in reperfusion period, iloprost was given intravenously from tail vein in a rate of 20 ng/kg/min with the aim of perfuzator. And than left nephrectomy was performed. In group of levosimendan, levosimendan was given 25 micg/kg bolus and 0.2micg/kg/min infusion rate for 15 minutes via tail vein and again left nephrectomies were performed for each one of rats. Renal tissues were fixed with glutaraldehyde and stained with hematoksilen-eosin. Samples were examined by light microscopy. Statistically meaningful pathological alterations were observed between ischemia and reperfusion group and control group. Edema was not observed in groups so it was not included in criteria's. In group of iloprost, while blurry swelling and tubules necrosis were statistically meaningful inflammatory cell infiltration and congestion were not. In group of levosimendan blurry swelling, tubular necrosis and inflammatory cell infiltration were meaningful but not congestion. As a result, regarding to our study, in cases of acute lower limb ischemia reperfusion, iloprost and levosimendan decrease the ischemic injury in renal tissues in a way of protecting microcirculation and providing cytoprotective effect with vasodilatation.

Key words: Blurry swelling, tubular necrosis, inflammatory cell infiltration, iloprost, levosimendan

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
SUMMARY.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 İskemi.....	3
2.2 Reperfüzyon.....	6
2.3 İskemi Reperfüzyon Hasarı Mekanizmaları.....	8
2.4 Ekstremitte İskemi Reperfüzyon Fiziopatolojisi Ve Uzak Organ Hasarı.....	14
2.5 Böbreğin Yapı ve Fonksiyonları.....	16
2.6 İskemi Reperfüzyon Tedavi Seçenekleri.....	19
2.7 İloprost.....	20
2.8 Levosimendan.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1 Deneklerin Hazırlanması ve Operasyon Tekniği.....	27
3.2 Deney Grupları.....	28
3.3 Böbrek Dokularının Histopatolojik İncelenmesi.....	29
3.4 Histopatolojik Skorlama.....	29
3.5 İstatistiksel Analiz.....	29
4. BULGULAR.....	31
5. TARTIŞMA.....	39
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
KAYNAKLAR.....	46

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE İnhibitörü	Anjiotensin konverting enzim inhibitörü
ADP	Adenozin di fosfat
AMP	Adenozin mono fosfat
ATN	Akut Tubuler Nekroz
ATP	Adenozin tri fosfat
Ca ⁺²	Kalsiyum
cAMP	Siklik adenozin mono fosfat
C _{5a}	Kompleman faktör 5 a
DNA	Deoksi ribo nükleik asit
ELAM ₁	Endotel lökosit adezyon molekülü 1
H+E	Hemotoksilen Eozin
ICAM ₁	İntersellüler hücre adezyon molekülü
IL ₁ β	İnterlökin 1 beta
IL ₈	İnterlökin 8
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
K ⁺	Potasyum
LT B ₄	Lökotrien B 4
Na ⁺	Sodyum
Na-K ATPaz	Sodyum potasyum ATPaz
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrojen
NOS	Nitrik oksit sentaz
O ₂ ⁻	Süperoksit radikali
·OH	Hidroksil radikali
PgE ₂	Prostoglandin E 2
PgI ₂	Prostoglandin I 2 = Prostosiklin
SOR	Serbest oksijen radikalleri
TXA ₂	Trombaksan A ₂
TNF α	Tümör nekrozis faktör alfa
VCAM ₁	Vasküler hücre adezyon molekülü 1

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. İskemik zedelenmede olaylar dizisi.....	6
2.2. Serbest oksijen radikallerine bağlı hücre hasarı.....	8
2.3. İskemi reperfüzyon hasarında lökosit-endotel etkileşimi.....	12
4.1. İskemi Reperfüzyon grubunda yoğun bulanık şişme ve orta tubuler nekroz.....	36
4.2. İskemi Reperfüzyon grubunda glomerülde yoğun konjesyon.....	36
4.3. Levosimendan grubunda glomerülde minimal konjesyon ve tubulus epitelinde minimal ödem.....	37
4.4. İloprost grubunda tubuluslarda minimal bulanık şişme.....	37
4.5. Levosimendan grubunda minimal PMNL ve lenfosit infiltrasyonu.....	38

TABLÖLAR

	Sayfa
2.1. Oksijen bileşikleri.....	10
4.1. Kontrol grubu histopatolojik skorlaması.....	31
4.2. İskemi/reperfüzyon (İ/R) grubu histopatolojik skorlaması.....	31
4.3. İ/R+ İloprost grubu histopatolojik skorlaması.....	32
4.4. İ/R+ Levosimendan grubu histopatolojik skorlaması.....	32
4.5. Kruskall Wallis Testi İle dört grup karşılaştırması.....	33
4.6. Kontrol-İskemi reperfüzyon grubu arasındaki istatistiksel analiz.....	34
4.7. Kontrol-İloprost grubu arasındaki istatistiksel analiz.....	34
4.8. Kontrol-Levosimendan grubu arasındaki istatistiksel analiz.....	34
4.9. İskemi reperfüzyon-İloprost grubu arasındaki istatistiksel analiz.....	35
4.10. İskemi reperfüzyon-Levosimendan grubu arasındaki istatistiksel analiz.....	35
4.11. İloprost-Levosimendan grubu arasındaki istatistiksel analiz.....	35

1. GİRİŞ

Günümüzdeki modern kardiyovasküler cerrahi yöntem ve tekniklerinin sunduğu gelişmiş imkanlara rağmen aortik girişimler sonrasında gelişen iskemi reperfüzyon postoperatif morbidite ve mortaliteyi etkileyen ciddi bir problem olmaya devam etmektedir. Tüm gelişmelere rağmen dolaşım sistemini ilgilendiren ve organ iskemisi temelinde oluşan hastalıklar tüm dünyada ve ülkemizde en önemli ölüm nedenleri arasında önceliğini korumaktadırlar. İskelet kası akut iskemisi klinikte sık karşılaşılan bir sorundur. Özellikle aort cerrahisinde aortaya kros klemp konması sonucu oluşmaktadır. Akut ekstremitte iskemisi ciddi morbidite ve mortaliteye neden olan klinik bir problemdir. Akut iskemik duruma yol açan neden ortadan kaldırılıp reperfüzyon sağlandığında da morbidite ve mortalite riski devam etmektedir. Hatta iskeminin uzaması riski artırır. Ekstremitte perfüzyonu tam olarak sağlansa bile ekstremitte kaybına akut böbrek ve solunum yetmezliğine diğer dokularda fonksiyon bozukluğuna neden olabilir. Bu “reperfüzyon hasarı” veya Haimovici’nin önerdiği şekliyle “myonefropatik metabolik sendrom”olarak adlandırılan olaylar özellikle geç girişim yapılmış akut olgularda morbidite ve mortalitenin esas nedenidir (1).

İskemi tablosu; dokuların ya da bir organın damar yatağında bulunan arterlerden bir veya birkaçının kan akımının kısmen veya tamamen kesilmesi sonucu oluşur. Bu süreçte dokunun ihtiyacı olan oksijen ve diğer metabolitler sağlanamaz. Dolayısıyla oluşan artık maddeler dolaşım tarafından uzaklaştırılmaz, doku veya organda birikir. İskemik bölgedeki hücreler daha önceden sürdürdükleri aerobik metabolizmayı idame ettiremedikleri için anaerobik metabolizma yoluyla enerji sağlamaya çalışırlar. İskemi, iskemi/reperfüzyon hasarının ilk kısmını oluşturmakta olup metabolizmanın anaerobik tarafa kayması ile karakterizedir. Bir iskemi periyodu sonrasında, kesilmiş olan kan akımının tekrar sağlanması reperfüzyon olarak adlandırılmaktadır. Anaerobik metabolizma sonucu oluşan metabolitler reperfüzyonla birlikte oksitlenerek dolaşıma karışırlar ve uzak organ hasarından sorumlu olurlar.

İskemi reperfüzyon hasarının temelinde reperfüzyon esnasında dokunun oksijenizasyonu sonucu ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri bulunmaktadır. Reaktif oksiradikaller birçok kaynaktan salınabilirler, bunlar arasında en önemli

olanı reperfüzyon esnasında dokuya gelen aktive olmuş nötrofillerdir. Lökosit aktivasyonu ile karakterize enflamatuvar yanıt end organ hasarında en önemli rolü oynar.

Kardiyovasküler cerrahide aort ya da periferik arter klemp uygulaması, tromboembolik olay sonrası sağlanan reperfüzyon, arter greftleme operasyonları sonrası ortaya çıkan tablo iskemi reperfüzyon hasarı ile karakterizedir Akut iskemi gelişen bir ekstremiteye kan akımı yeniden sağlandığı zaman, iskemik periyotta oluşandan daha fazla iskelet kası nekrozu meydana gelebilir. Bu durum etkilenen ekstremitelerde ödem, metabolik asidoz, mikroskobik myoglobinüri ile kendini gösterir. Cerrahi işlemler sırasında dokuların iskemisi ve sıklıkla bunu takip eden bir reperfüzyon periyodu vardır. Böbrek de pek çok nedenle iskemik koşullara maruz kalabilmekte ve reperfüzyon sonrası böbreklerde meydana gelen incinme böbrek dokusunun özelliğinden dolayı değişik derecelerde kalıcı hasara yol açabilmektedir.

Günümüzde iskemi reperfüzyon hasarını önlemeye ve azaltmaya yönelik pek çok tedavi stratejileri geliştirilmiş ve geliştirilmeye devam etmektedir. Tüm protokollere rağmen iskemi reperfüzyon, sonucunda mortalite ve morbiditeye neden olabilmektedir. Lokal ve uzak etkileri ile hastanede kalış süresini uzatabilmektedir. En uygun stratejinin ne olduğu halen tartışma konusudur.

Bizim çalışmamızda yeni moleküller olan iloprost (Pgl₂ analogu) ve levosimendanın (kalsiyum duyarlaştırıcı) alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarı sonrası böbrek dokusuna etkilerini histopatolojik olarak incelenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İskemi

İskemi tam olarak dolaşım tarafından dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının sağlanamaması ve oluşan atık ürünlerin uzaklaştırılmamasıdır. İskemiye bağlı doku hasarında hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi hücre ölümüne neden olur (2). İskemi aerobik oksidatif solunumu etkileyen son derece önemli ve genel bir hücre zedelenme ve ölüm nedenidir. Hipoksik durumun şiddetine bağlı olarak hücreler adapte olabilir, zedelenebilir, ya da ölür (3). İskemi hücre zedelenmesinin en sık görülen tipidir. Hipoksi ise dokuya yetersiz oksijen sunumu şeklinde tarif edilebilir. Her iki durumda iskemi-reperfüzyon hasarının ilk kısmını oluşturmakta ve metabolizmanın anaerobik tarafa kaymasıyla karakterizedir (4). İskemi akut (akut myokard infarktüsü) veya kronik (periferik arter hastalığı) olabilir.

Oksijen homeostazı insan fizyolojisinde hayati önem taşır. Oksidatif fosforilasyon sırasında ATP sentezi için kullanılan oksijen aynı zamanda hücresel lipid, nükleik asit ve proteinlerdeki oksidatif hasar mekanizmalarında da rol oynar. Dolayısıyla, protein sentezi ve aktivitesini kontrol eden kısa ve uzun dönem mekanizmalarla hücresel ve sistemik oksijen konsantrasyonlarının dengelenmesi oksijen biyoyararlanımı açısından önemlidir (5). İskemide hücre zedelenmesinin patogeneğinde oksijen yetersizliğinin önemi belirtilmekle birlikte kısmen azalmış reaktif oksijen türevleride hücre ölümünün önemli araçlarındandır.

İskemiye bağlı hasarın şiddeti, hipoperfüzyonun süresi ve miktarı ile orantılı olup, hücrenin tipi, yaralanmaya karşı hassasiyeti, diferansiyasyonu, kan ihtiyacı ve metabolizmasına göre farklılık gösterir. İskemiye bazı dokular dirençli iken (kemik, deri), bazı dokular hassastır (iskelet kası, böbrek).

Sonuç olarak, uzun süreli iskemilerde; hücresel şişme, asidoz, hücre içi kalsiyum /sodyum oranında artış, ATP/fosfokreatin seviyesi azalması, hipoksantin seviye artması, membran potansiyel değişiklikleri, iskelet bütünlüğü kaybı, nükleotid hidrolizi gibi hücre metabolizması ve iskelet yapısını ilgilendiren birçok değişim meydana gelir (6).

İskeminin süresine ve şiddetine bağlı olarak iki türlü hücresel zedelenme

ortaya çıkar:

Geri dönüşlü zedelenme,

Geri dönüşsüz zedelenme.

Geri Dönüşlü Zedelenme

Hipokside ilk etkilenen mitokondrial oksidatif fosforilasyonla sağlanan hücrenin aerobik solunumudur. ATP yapılımı yavaşlar ya da durur. ATP kaybı hücrede yaygın olarak birçok sistemi etkiler, özellikle potasyumun difüzyonla dışarı atılımı ve sodyumun hücre içi birikimine yol açan sodyum pompası yetersizliğine sebep olacak şekilde Oubain duyarlı ATPaz aktivitesinin azalmasına neden olur. İyon tutulumuna izo-ozmotik su birikimi eşlik ederek akut hücresel şişme ortaya çıkar (3).

Hücrede ATP azalınca AMP birikir. AMP fosfofruktokinazı uyarır, bu da anaerobik glikoliz ile glikojenden ATP sentezini arttırarak hücreye enerji sağlar. Glikolizis laktik asit ve fosfat türevlerinin hidrolizi ile inorganik fosfatların birikimine yol açar, bu da hücre içi PH'yı düşürür (3). Yine iskemi sırasında devam eden başka bir olay ATP seviyesinin azalmasına karşın ADP düzeyinin artmasıdır. Artan ADP'ler önce AMP'ye daha sonra adenozin, inozin ve en sonunda hipoksantine dönüşür. Hipoksantin reaktif oksijen radikallerinin prekürsörü olarak hücre içinde miktarı artar (3). Normal koşullarda hipoksantin, ksantin dehidrogenaz yardımıyla ksantine dönüştürülür. İskemi sırasında ksantin dehidrogenaz ksantin oksidaza dönüşür. Substrat olarak nikotinamid adenin dinükleotid kullanan ksantin dehidrogenazın aksine ksantin oksidaz oksijeni kullanır. Bundan dolayı hipoksantin ksantine dönüşümünü katalize edemez, sonuçta dokuda hipoksantin düzeyi aşırı seviyelere çıkar. Reperfüzyonla oksijen tekrar dokuya sunulduğunda fazla miktardaki hipoksantin ksantin oksidaz ile reaksiyona girmesi sonucunda toksik serbest oksijen radikalleri oluşur (3).

Bunu izleyen olgu granüllü endoplazmik retikulumdan ribozomların ayrılması ve polizomların bozulmasıyla monozomların oluşmasıdır. Eğer hipoksi sürerse membran geçirgenliği azalır. Sonuçta hücre yüzeyinde yerel şişkinlikler olur. Konsantrik laminalardan oluşan plazma ve organel membranlarından kaynaklanmış sitoplazma içinde ya da hücre dışında görülen miyelin şekiller ortaya çıkar. Bu evrede mitokondriyalar normal ya da hafifçe şişmiş ya da yoğunlaşmıştır. Endoplazmik retikulum genişlemiştir ve tüm hücre belirgin olarak şişkindir (3).

Oksijen verildiğinde yani iskemi sonlandırıldığında yukarıdaki tüm biyokimyasal ve patolojik bulgular geri dönebilir. Eğer iskemi devam edecek olursa ATP'deki azalma şiddetlenir ve geri dönüşsüz zedelenme oluşur.

Geri Dönüşsüz Zedelenme

Morfolojik olarak kristalarındaki içermek üzere mitokondriyonların ileri derecede vakuolizasyonu, plazma zarlarının aşırı yıkımı, lizozomların şişmesi ve özellikle bu iskemik alan yeniden perfüze olursa hücre içine yoğun kalsiyum alınması şeklinde görülür. Mitokondriyon matrisinde şekilsiz yoğunlaşmalar gelişir. Mitokondriyumda iskemiden sonra bu erken geri dönüşsüz zedelenme bulguları 30-40 dakikada gözlenebilir (3).

Kritik iskemi zamanı, doku canlılığının sürdürülebildiği maksimum iskemi süresi olarak tarif edilir. Ortalama kritik iskemi süresi ise %50 doku kaybına neden olan iskemik zaman dönemidir. Hücrenin metabolik aktivitesi ve adaptasyon mekanizmalarına göre kritik iskemi süresi farklılık göstermekle birlikte uzun süreli iskemide geri dönüşsüz hasar ve nekroz kaçınılmazdır (4, 6).

Sürekli olarak aşırı geçirgen membranlardan protein, temel koenzimler ve ribonükleik asitler kaybolur. Hücre aynı zamanda yaşamını sürdürmek için gerekli olan ATP'nin yeniden oluşumunda kullanacağı hücre içi yüksek enerjili fosfatlarını yitirir (3).

PH düşmesi lizozom membranlarında zedelenmeye yol açar. Enzimler sitoplazmaya geçerek asit hidrolazların aktivasyonu ile hücre bileşenlerinin enzimatik sindirimine bu da ribonükleoprotein, deoksiribonükleoprotein ve glikojen yitimine sebep olur (3).

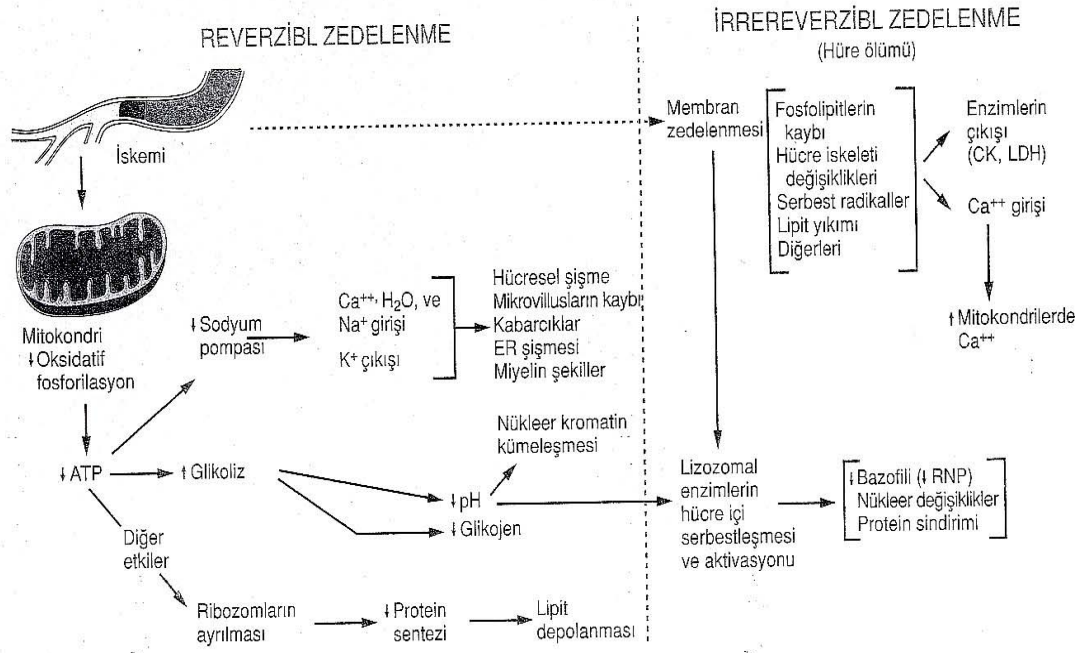
Sonuç olarak ölü hücre myelin şekiller biçiminde büyük fosfolipid kitlelerine dönüşebilir. Bu ya diğer hücrelerce fagosite edilir ya da yağ asitlerine parçalanır. Yağ asitlerinin artıklarının kalsifikasyonu kalsiyum sabunlarının oluşmasına neden olur (3).

Hücrede meydana gelen iki olay geridönüşsüzlüğü karakterize eder. Önce mitokondriyum işlev bozukluğunun yeniden kanlanma ve oksijenlenmeye karşın düzelmeyişi (oksidatif fosforilasyon ve ATP rejenerasyon yokluğu) ve daha sonra membran işlevlerinde belirgin bozuklukların gelişimi (3).

Geri dönüşsüz hücre zedelenmesinde membran zedelenmesi sonucunda

kalsiyum yüksek yoğunlukta bulunduğu hücre dışından hücre içine geçer. Reperfüzyon sağlansa dahi kalsiyum akümülyasyonu devam eder. Kalsiyum mitokondriler tarafından alınır; hücreyel enzimleri inhibe eder, proteinleri denatüre eder ve koagülyasyon nekrozu için karakteristik değışikliklere neden olur. Kalsiyum iyonları hücreyi ölüme götüren biyokimyasal değışikliklerde önemli bir mediatördür (3).

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



Şekil 2.1. İskemik Zedelenmede Olaylar Dizisi

2.2. Reperfüzyon

Reperfüzyonun ana amacı, o doku veya organın korunması ve yeniden fonksiyonlarını kazanması için tamir edilmesidir. Reperfüzyonla birlikte oluşan hasarın büyüklüğü iskemik süresi ve şiddeti ile ilişkilidir. Kısa süreli iskemilerde reperfüzyon hasarının şiddeti hafif olurken, iskeminin süresinin uzun ve irreversible

hasarın oluştuğu durumlarda reperfüzyonla birlikte hücrelerin kurtarılması mümkün olmayabilir.

İskemiye maruz kalmış bir dokunun reperfüze edilmesiyle iskemik hasarın azalacağı beklenir; ancak belli durumlarda bu mümkün olmaz ve aksine hasarın arttığı tespit edilir. Bu fenomeni açıklamaya yönelik bir takım hipotezler geliştirilmiştir. İskemi sırasında bazı hücrelerin hasara karşı duyarlı hale gelebileceği ve reperfüzyon sırasında ortaya çıkan bazı zararlı etkenler karşısında bütünlüklerini kaybedebilecekleri ileri sürülmüştür. Duyarlı hale gelmiş bu hücreleri öldürebilen en olası zararlı etkenin serbest oksijen radikalleri olduğu ileri sürülmüştür. Bunlar endotel ve parankimal hücrelerden ve inflamasyon nedeniyle dokuya nüfuz etmiş nötrofillerden kaynaklanabilir. Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonu ile membranlara zarar verebildikleri gibi, protein, DNA ve mitokondrilere de zarar verebilirler. Bunun dışında reperfüzyon esnasında hücre içine kalsiyum akümülyasyonunun masif bir hal aldığı ve ardından kalsiyumun özellikle mitokondrilere alınmasının reperfüzyon hasarının belkemiğini oluşturduğu yönünde kanıtlar mevcuttur. İskemi sırasında dokuda oluşan metabolitler sirkülyasyon olmadığından dokuda birikir (7).

Kan akımının normale dönmesiyle (reperfüzyon) oluşan metabolitlerin oksidasyonu sonucu oluşan maddeler dolaşıma karışır ve kan yolu ile tüm vücuda yayılarak uzak organ hasarından sorumlu olurlar.

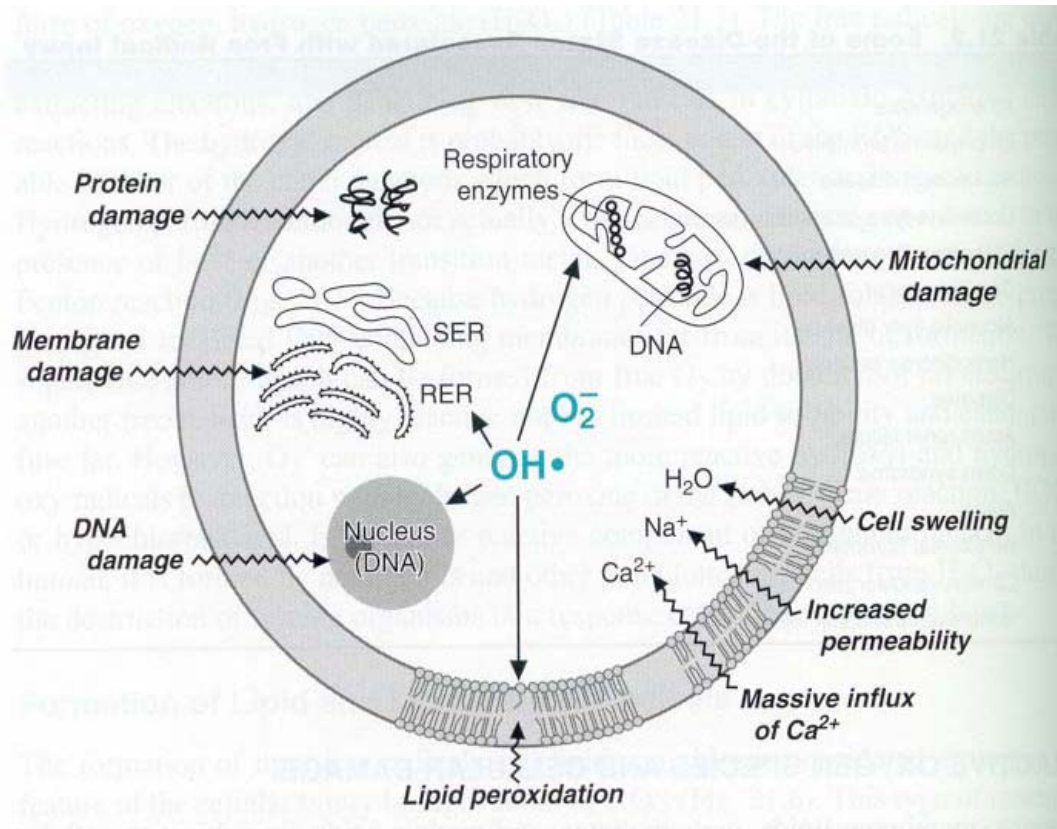
Reperfüzyon, iskemi sonrası iskeminin bıraktığı hasarı artıran bir potansiyele sahiptir. Reperfüzyon hasarı endotelial ve mikrovasküler disfonksiyon, sellüler nekroz ve apoptozisle karakterizedir. Reperfüzyon hasarına yol açan mekanizmalar, etkileyici bir düzen içindedirler (7).

İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması durumunda özellikle dokuya gelip yerleşen polimorfonükleer lökositler tarafından salınan serbest oksijen radikalleri dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar (8). İskemik dokuya gelen ve yerleşen polimorfonükleer lökositler birçok yoldan etki ederek iskemik dokuyu yok ederler. Lökositler endotel lökosit aezyon molekülü (ELAM-1), intersellüler adezyon molekülü (ICAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1), L-Selectin gibi adezyon moleküllerine tutunarak iskemik dokuya yerleşir (9).

Reperfüzyon sonrası iskemik dokuya olan sürekli lökosit göçü,

iskemi/reperfüzyon hasarına bağlı doku hasarının devamını ve genişlemesini sağlar. Lökositler proteolitik enzim (elastaz) ve serbest oksijen radikalleri sentezi ve kapiller seviyede mikrodolaşım tıkanıklığı ile hasara katkıda bulunur (4, 10)

Bu patolojik olayın ortaya çıkmasından sorumlu tutulan mekanizmalar olarak serbest oksijen radikalleri (SOR), proinflatuvar mediatörlerin artması, lökosit infiltrasyonu, kalsiyum yüklenmesi, fosfolipid peroksidasyonu ve azalması, bozulmuş nitrik oksit metabolizması ve azalmış ATP sentezi ileri sürülmüştür (11).



Şekil 2.2. Serbest oksijen radikallerine bağlı hücre hasarı

2.3. İskemi Reperfüzyon Hasarı Mekanizmaları

İskemik dokunun infarktüsden kurtulması için reperfüzyon şarttır. Ancak reperfüzyon iskeminin dokuda yapmış olduğu hasarı arttırarak infarkt sahasının genişlemesine neden olur. Bu olayların tamamına birden “reperfüzyon hasarı” adı verilir. İskemiye maruz kalan her dokuda reperfüzyon hasarı oluşur.

Hüresel şişme, hücre iskeleti değişiklikleri ve seçici mikrovasküler geçirgenlik kaybı reperfüzyona bağlı hasarın karakteristik özellikleridir. Bu

mekanizmalar doku ödemi ve kapiller kan akımında azalmaya neden olur (12).

İskemik dokunun reperfüzyonu sırasında dokuya sağlanan oksijen ve metabolitler, hasarı geriletebileceği gibi hasarın ilerlemesinde neden olabilir. Bu ince çizgi, iskemik hasarın geri dönüşümlü olup olmadığına bağlıdır (4).

Serbest Oksijen Radikalleri

Reperfüzyon başlamasıyla birlikte ortamda oksijen miktarı arttığından serbest oksijen radikalleri oluşumu artmaktadır. Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren molekül veya atomlardır. Sahip oldukları serbest elektron nedeniyle reaksiyon kapasiteleri yüksektir. Serbest radikaller stabil olmadığından çok kısa ömürlüdürler. Elektriksel yükleri pozitif, negatif veya nötr olabilir (13).

Biyolojik sistemlerde elektron transferinin yer aldığı indirgenme yükseltgenme reaksiyonlarında serbest radikaller oluşmaktadır. Oluşan bu radikaller endojen mekanizmalarla etkisiz hale getirilirler. İskemi sonrası reperfüzyon safhasında oluşan serbest oksijen radikal düzeyi vücut savunma sistemlerini aştığından lokal ve sistemik etki oluşmasına neden olur (14).

Aerobik canlılarda serbest radikaller için en önemli kaynağın moleküler oksijen olduğu kabul edilmektedir. Normal metabolizma sırasında oksijenin %98'i H₂O'ya indirgenmektedir. Geriye kalan %2'lik kısım süperoksit ve hidroksil radikaline dönüşür. En önemli serbest oksijen radikalleri süperoksit (O₂⁻) ve hidroksil (·OH) anyonlarıdır (15).

Hücre zarı fosfolipidleri (araşidonik asit, linoleik asit, linolenik asit) iskemi reperfüzyon hasarı esnasında peroksidasyona uğrarlar, peroksidasyon sonucu oluşan malondialdehid gibi stabil ürünlerin ölçümü serbest oksijen radikali öncülerinin aktiviteleri konusunda fikir verir. Dolayısı ile lipid peroksidasyonu iskemi reperfüzyon hasarının hem tanısında hemde fizyopatolojisinde önemli rol oynar (16).

Doku iskemi reperfüzyon hasarı serbest oksijen radikali kaynakları: Xsantin oksidoredüktaz enzimi, mitokondrial oksidasyon, siklooksigenaz aracılı doymamış yağ asidi oksidasyonu, ketakolamin oksidasyonu, sitokrom p450 aracılı oksidasyon, lökosit NADPH oksidaz aktivasyonu, demir salınımı ve redoks siklusudur. Ek olarak iskemi sırasında, oksidatif hasara karşı hücrel defans mekanizmaları (süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz) inhibisyona uğrayarak daha az fonksiyon

görürler (4).

Serbest oksijen radikal hasarı, iskemi reperfüzyon hasarı temel mekanizması olup hemen hemen tüm basamaklarda etkin rol oynar. Bunlar: Sarkoplazmik retikulum kalsiyum ATPaz sistemini ve hücre zarı Na-K ATPaz sistemini inhibe ederek hücre kalsiyum yükünü artırır. Hücre zarı fosfolipid yapısında peroksidasyon oluşturarak hücre zarı bütünlüğünün bozulması ve hücre şişmesine neden olur. Lökositler için kemotaktik olup lökosit birikimi ve aktivasyonunu sağlar. No-reflow fenomeninde aracı olarak görev yapar. Nitrik oksit ile reaksiyon sonucu oluşan peroksinitrit aracılığı ile doku hasarını artırır. Protein ve enzimlerde yapısal bozulmaya ve parçalanmaya neden olur. Genetik yapıda hasarlanma oluşturur.

Tablo 2.1. Oksijen Bileşikleri

Reaktif Oksijen Bileşikleri	Radikal Olmayanlar
O_2^- = Süperoksit	H_2O_2 = Hidrojen Peroksit
$\cdot OH$ = Hidroksil	1O_2 = Singlet Oksijen
$HO_2\cdot$ = Hidroperoksil	$HOCl$ = Hipokloröz Asit
$RO\cdot$ = Alkoksil	$ONOO^-$ = Peroksinitrit Radikali
$ROO\cdot$ = Peroksil	O_3 = Ozon
$NO\cdot$ = Nitrik oksit	$LOOH$ = Lipid Hidroperoksit
$NO_2\cdot$ = Azot Dioksit	

Sodyum-Hidrojen Değişircisinin Aktivasyonu

İskeminin başlaması ile birlikte normalde var olan aerobik metabolizma derhal anaerobik forma dönüşerek doku biyoenerjisi ve iyon homeostasisi, moleküler regülasyon ve organ performansında bozulmaya yol açmaktadır. İskemi ve hipokside aerobik metabolizma devam edemediğinden dokuda var olan adenzin trifosfatlar (ATP) tüketilir. Yeni ATP üretimi yetersiz kaldığından enerji ihtiyacı için gerekli olan olayların sürekliliği sağlanamaz. ATP düzeyinin azalması ile birlikte iyon gradientinin sürdürülmesi için hücrelerdeki Na-K ATPaz enzimi fonksiyon göremez. Bunun sonucu hücre içinde Na^+ konsantrasyonu artar. Hücre içindeki artmış Na^+ 'u dışarıya çıkarmak için Na-Ca antiport sistemini devreye sokar. Bu sistem hücre içindeki artmış olan Na^+ 'dan bir adet dışarıya çıkarırken bunun yerine bir adet Ca^{+2}

içeriye taşır. Bunun sonucu olarak hücre içi Ca^{+2} miktarı artar. Artmış olan Ca^{+2} ortamda ATP olmadığından hücrenin kasılabilirliğini artırmaz. Buna karşılık mitokondrilerde şişme ve matrikste hidroksiapatit kristallerinin birikmesine yol açmaktadır (17, 18).

İskemi Reperfüzyon Hasarında Lökosit ve Endotel etkileşimi

İskemi reperfüzyon hasarında aktif hale gelen ilk hücre nötrofil olup hasarın elzem hücrelerindedir. Mikrovasküler ve mukozal hasarın çoğundan sorumlu son mekanizma oldukları düşünülmektedir (4). İskemi reperfüzyon; endotel ve lökosit hücre yüzeyleri adezyon molekül oluşumunu artırarak lökosit diapedeziyle sonuçlanan kaskadın aktivasyonuna neden olur (19). Doku iskemisi sonrası dokudan açığa çıkan (platelet, endotel ve nötrofillerden) kemotaktik sinyaller nötrofil adezyon ve diapedez sürecinin düzenli şekilde gerçekleşmesine neden olurlar. Dolaşımda bulunan nötrofiller aktive olduklarında iskemik doku endoteline yapışıp interstisyel alana geçerler (20).

Serbest oksijen radikalleri kemotaktik stimulanların oluşumunu artırarak (PAF, LTB_4), kompleman aktivasyonunu gerçekleştirerek, adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırarak, antiadhesiv molekül olan nitrik oksitin yıkımını artırarak lökosit infiltrasyonuna neden olurlar (21).

Aktive olmuş lökositler salıverdikleri serbest oksijen radikalleri, sitotoksik enzimleri ve mikrosirkülasyonda oluşturdukları obstrüksiyonla hasara katkıda bulunurlar. Lökositlerin iskemik reperfüzyon periyodundan sonra çizgili kasta biriktiği gözlenmiştir (22).

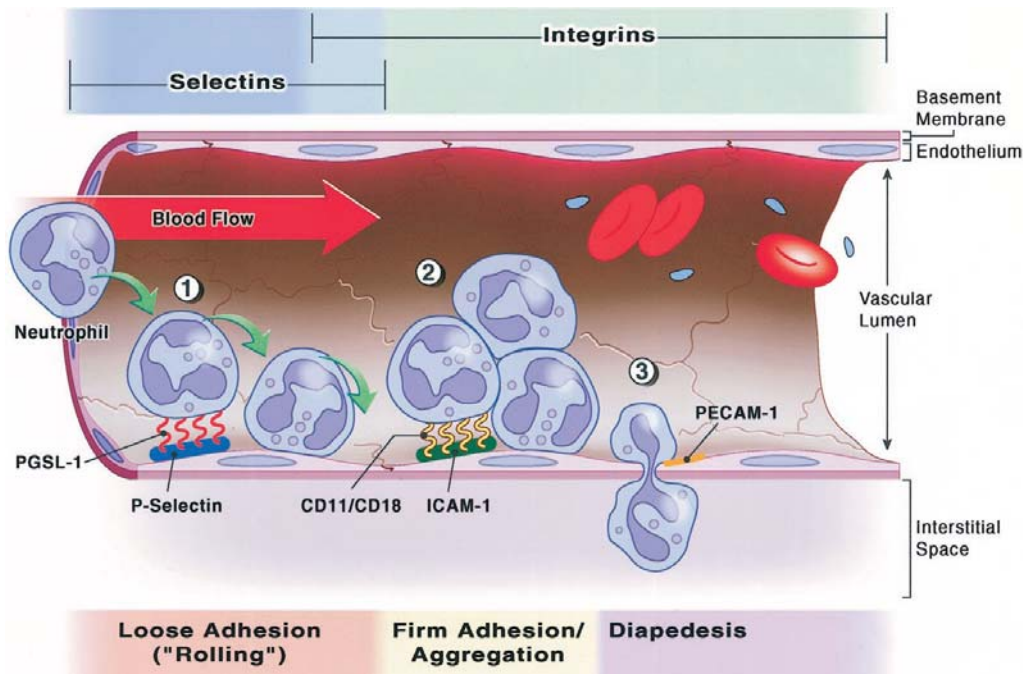
Lökositlerin dokuya nüfuz edebilmelerinin ön koşulu endotel hücrelerine yapışmalarıdır (Adezyon). Başlangıçta lökositler ve aktive olmuş endotel hücreleri arasında oluşan adezyona E-selektin, P-selektin ve L-selektin aracılık eder. Bu şekilde adezyona uğramış lökositler $C5a$, Lökotrien B_4 (LTB_4), interlökin 8 (İL-8) ve platelet aktive edici faktör (PAF) aracılığı ile aktive edilirler ve yüzeylerinde CD11b/18 molekülleri belirir. CD11b/18 ve ayrıca ICAM-1 etkinliği sonucu daha önce oluşan adezyon güçlenir ve transendotelial migrasyon oluşur (23, 24, 25).

Sonrasında, endotel hücreleri arasından geçen lökositler hedef dokuya göç ederler (Diapedez). Lökosit göçü esas olarak venöz kılcallardan olur. Lökositler bu göç esnasında endotel bazal membranında bir süre duraklarlar. Lökositlerden

salgılanan kollagenazlar, bazal membran parçalanması ve lökositlerin interstisyel alana geçişlerinde önemli rol oynar. Hasarlı dokuya olan lökosit kemotaksisi C5a (kompleman sistem unsuru), LTB-4 (Araşidonik asit lipoksigenaz yolu ürünleri), İL-8 (Sitokin) yoluyla sağlanır (8). İskemi reperfüzyon sırasında oluşan TNF α , İL 1 β , PAF ve kompleman sistemi gibi inflamatuvar araçların hepsi lökosit göçünü artırır (26).

Hasarlanmış bölgede biriken hücre tipi, inflamasyonun süresi ve uyarının tipine göre değişir. İskemi reperfüzyon hasarına inflamatuvar cevapta ilk 6-24 saat nötrofil hakimiyeti mevcut iken, 24-48 saatlerde monositler baskın hale geçerler. Bunun nedeni nötrofillerin kanda fazla bulunması, daha hızlı aktive olmaları, adezyon moleküllerine yüksek afinite ile bağlanmaları ve yarı ömürlerinin kısa olmasıdır. Dolayısıyla akut dönemde nötrofil kronik dönemde monosit hakimiyeti vardır (8).

Tüm bu basamaklar sonucunda lökositler dokuda hasarın genişlemesine neden olurlar. Bu durumun klinik yansıması mikrovasküler tromboz ve disfonksiyon ile karakterize “no-reflow” fenomenidir (4).



Şekil2.3. İskemi reperfüzyon hasarında lökosit-endozel etkileşimi

Mikrodolaşım(No-reflow fenomeni)

Mikrodolaşım, en uç kan dolaşım sistemidir. İskemi sonrası reperfüzyon periyodunda iskemik dokuda ilk biriken hücreler plateletlerdir. Bunlar endotel aktivasyonuna ve lökosit birikimine katkıda bulunurlar (10). Aktive olmuş lökositler inflamatuvar yanıt oluşmasına neden olurlar. Lökositler mikrodolaşımında birikerek kollaps ve tıkanıklığa neden olurlar. Dolayısıyla lökosit-platelet ve lökosit-endotel hücre etkileşimleri ana mekanizma olup, interstisyel sıvı birikimi ve azalmış endotel bağımlı vazodilatasyon bu duruma katkıda bulunur (27).

Lökosit-endotel etkileşimi endotelde şişme ve daha çok lökosit adezyonuyla sonuçlanır. Lökosit-platelet adezyonu ise plateletlerin subendotel alanda birikerek, endotel ayrılmasına neden olur. Biriken plateletler daha fazla lökosit etkileşimine neden olur (28). Sonuç olarak endotel-lökosit-platelet etkileşimleriyle fibrin birikimini takiben trombüs oluşumu gözlenir.

Nitrik Oksit

Nitrik oksit L-Arginin'in guanidium grubundan, Nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi aracılığı ile endotelde sentezlenen diatomik serbest radikaldir (29). Üç farklı NOS enzimi vardır. Endotelial, nöronal ve üçüncüsünde normal koşullarda üretilmeyen ancak enflamasyon veya enfeksiyon durumlarında sitokinler veya endotoksinler tarafından indüklenebilen iNOS'dur. Ayrıca iNOS NO üretimi Ca^{+2} bağımsızdır. Nitrik oksit, iskemi reperfüzyon hasarına karşı oldukça iyi bilinen koruyucu ve mediatördür (29).

Nitrik oksit vasküler tonusun fizyolojik regülasyonu, platelet agregasyonunun inhibisyonu, endotele lökosit adezyonunun engellenmesi, oksijen derive serbest radikallerin temizlenmesi, normal vasküler permeabilitenin idamesi, düz kas proliferasyonunun engellenmesi, immun defansın güçlendirilmesi, endotel hücrelerinin rejenerasyonu gibi birçok yaşamsal olayda etken bir maddedir (30). Aynı zamanda iskemik dokularda süperoksit dismutaz aktivitesini etkileyerek hidrojen peroksit birikimini azaltır (31).

İskemi reperfüzyon hasarına bağlı gelişen endotel hücre disfonksiyonunda, nitrik oksit sentezinde azalma oluşarak hücre hasarı derinleşir. Endotel disfonksiyonuna bağlı nitrik oksit azalma mekanizması hala tam olarak gösterilememiştir (29).

2.4. Ekstremitte İskemi Reperfüzyon Fizyopatolojisi ve Uzak Organ Hasarı

İskelet kası hem en büyük kütle olması hemde iskemik hasara en hassas dokulardan olması nedeniyle alt ekstremitte iskemik reperfüzyon hasarında önemli rol oynar. Alt ekstremitte iskemik reperfüzyon hasarında mikrovasküler disfonksiyon ve kas değişiklikleri birbirleriyle paralel seyretmekte olup, prognoz kas hasarı miktarına bağlıdır. Reperfüzyonla oluşmuş inflamatuvar yanıt, geri dönüşümlü zedelenme miktarı ile doğru, nekrotik kas miktarı ile ters orantılıdır. Antitrombotik ve antiinflamatuvar tedaviyle geri dönüşümlü zedelenmiş bölgedeki mikrovasküler disfonksiyon hedeflenir (32).

Alt ekstremitte iskemik reperfüzyon hasarında lokal ve sistemik etkiler gözlenir. Lokal etkiler iskelet kası ve damar endotelinde gözlenirken, sistemik etkiler başlıca akciğer, kalp, beyin ve böbrekler olmak üzere tüm dokularda gözlenebilir (32).

Kas nekrozu ve ATP deposu azalması arasında yakın ilişki saptanmıştır. İskemik kas dokusunda öncelikle glikojen ve kreatin fosfat azalırken bu safhada myonekroz oluşumu azdır. Sonrasında, ATP azalmasıyla birlikte, kas nekrozu hızla artma gösterir. 6 saatlik kas iskemisini takiben ATP deposunda %80 azalma ve kas dokusunun tümünde nekroz gözlenir (33).

Mikrodolaşım değişiklikleri, iskemik dönemde gerçekleşir ve iskemik süresi ile uyum gösterir. İskemi ilk olarak kapiller endotel hücreleri etkileyerek hem lümen hemde sitoplazmaya doğru uzanan parmaksı çıkıntılar oluşturur. İskeminin devamıyla birlikte endotel veziküllerinde artış oluşur. Bu arada, hücreler arası bağlar zayıflar ve geçit genişler. Heterojen dağılımlı endotel hücre ödemi oluşarak kırmızı küre sıkışmasını artırır. İskeminin dördüncü saatinden sonra mikrosirkülasyonda hücrel etkileşimler başlar. Venöz ve arteriel kılcallar reperfüzyon öncesinde sıkışmış eritrositlerle kapanmış görünümündedir. Eritrosit kümeleri erken reperfüzyonda endotelde hasar oluşturur. Endotel hücrelerinde parçalanma sonucu hücreler arası büyük geçitler oluşur. Reperfüzyonla birlikte özellikle venöz kılcallarda platelet ve fibrin kümeleri ile karakterize trombotik komplikasyonlar gelişir. Platelet kümeleri endoteldeki defektleri kapatır. Venlerde lökosit diapedezi oluşurken, venöz kılcallarda lökositlerin lenfosit ve monositlerle olan kümeleşmesi oluşur. Kas iskemisi ilerlediğinde kası besleyen damarda kalıcı tıkanıklık oluşur. İskemi süresi uzadıkça damarsal geçirgenlik artışı ve ilerleyici intersitisyel ödem

oluşur (32).

İskemik doku reperfüzyonu inflamatuvar bir cevap doğurur. Ancak doku nekrozundan reperfüzyon döneminden çok iskemik dönem sorumludur. Reperfüzyon sağlanmış hasarlı ve nekrotik alan miktarı morbiditeyi belirler (32).

İnflamatuvar cevabın tetikleyicileri; asit fosfataz, inorganik fosfat, laktik asit, myoglobin, nükleotidler, potasyum, proteolitik enzimler, pürin bazları gibi kas yıkım ürünleridir. Bu ürünler prokoagülan özellikte olup intrinsek pıhtılaşma sistemini aktive ederek venöz kılcal trombozu ve kollateral arteriollerde vazospasm oluşturur. Dolayısıyla antitrombotik ve antiplatelet tedaviyle geri dönüşümlü hasar bölgelerine olan kollateral akım ve mikrodolaşım korunarak nekrotik genişleme engellenebilir (32).

İskemi reperfüzyon hasarının önemli sonuçlarından biri uzak organ hasarı olup yüksek mortalite ve morbiditeyle seyreder. Oluşan sistemik inflamasyon hemen her organda hasar oluşturabilir. Ancak ilk gözlenen 24-72 saat içinde gözlenen akciğer yetmezliğidir. Aynı zamanda karaciğer, böbrek, santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem ve myokard disfonksiyonu görülebilir (34). İskemi reperfüzyon hasarı böbrekte oldukça sık karşılaşılan ve ciddi sonuçlara neden olan patolojik süreçlerdendir. Gelişen mekanizma ne olursa olsun iskemi reperfüzyon hasarının sonucu reversible veya irreversible hücre polarizasyonunda bozulma, apoptozis veya hücre ölümüdür.

Böbrek vücutta en iyi perfüze olan organ olması nedeniyle hipoperfüzyona da en çok duyarlı organlardan biridir. Abdominal aort cerrahisinde postoperatif dönemde morbidite ve mortaliteyi etkileyen en önemli komplikasyon böbrek yetmezliğidir. Aortik cerrahide akut böbrek yetmezliği oluşmasında en önemli fizyopatolojik mekanizma iskemi reperfüzyon hasarıdır (35). Böbrek yetmezliğinde aortik kross klemp uygulaması ve iskemi reperfüzyon hasarı önemli yer tutar (36). İskemi ile başlayan Tümör Nekrozis Faktör alfa artışı ve lökosit aktivasyonu ile karakterize inflamatuvar yanıt end organ hasarında en önemli rolü oynar (37).

İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği; glomerüler filtrasyon hızında azalma, tubuler nekroz, böbrek damarlarında direnç artışı ile karakterizedir (38). Böbrek kan akımındaki kesilme veya azalma ve sonradan oluşan reperfüzyon ile birlikte çeşitli derecelerde doku hasarı oluşur (39). Böbrek iskemi reperfüzyon

hasarında serbest oksijen radikalleri önemli rol oynamaktadır (39).

İnfrarenal aortik kros klemp renal vasküler dirençte büyük bir düşme ve renal kan akımında %30'luk bir düşüş ile ilişkilidir (40, 41). Renal hemodinamik bozukluk klemp kaldırıldıktan sonrada devam etmektedir (41). İnfrarenal abdominal aort cerrahisi geçiren hastalarda operasyondan altı ay sonra renal plazma akımı ve glomerüler filtrasyon oranı hala anlamlı derecede düşük bulunmuştur (42).

İskemi reperfüzyon hasarı öncelikle böbreğin hipoksiye duyarlı kısmından başlar. Böbreğe gelen kan akımının büyük kısmı renal korteksten geçer ve renal medullanın kanlanması sağlayan vasa rectaya çok az kan gider, bu da renal medullayı hipoksiye daha duyarlı hale getirir (43). Medüller hipoksi ayrıca hücresel enerji depolarının azalmasına, endotel ve düz kas hücrelerindeki aktin hücre iskeletinin bozulmasına neden olur. Bunun sonucu ise hücresel deformite ve çevre dokulardaki hipoksinin artmasıdır (43). Renal hasar öncelikle tubuloslarda oluşur. Nedeni iskemiye bağlı gelişen tubuler nekrozdur. Genellikle geriye dönüşümlüdür, reperfüzyonla birlikte 1-2 hafta içinde tubul fonksiyonları normale dönmektedir (44).

2.5. Böbreğin Yapı ve Fonksiyonları

Böbrekler insan vücudunda retroperitoneal kavitede, paravertebral yerleşimli olup, 12. torasik ve 3. lomber vertabralar arasında uzanırlar. Sağ böbrek, karaciğerin sağ lobunun büyük olması ve basısı nedeni ile sola göre 1-2 cm. daha aşağıda bulunur. Sağ böbrek üstte sürrenal bez, üst ve önde karaciğer, altta ve lateral kenarda kolon ile komşudur. Sol böbrek ise üstte sürrenal bez, önde mide, dalak, pankreas, jejunum, desenden kolon ile komşudur. Her iki böbrek arkada diafragma, kuadratus lumborum ve psoas kaslarına yaslanır. Lateral kenar konkav medial kenar ise konveks şekildedir. Medial kesimde renal hilus denilen ve içinde renal arter, renal ven, renal pelvis, üreter, lenfatik ve sinirlerin geçtiği bir yarık bulunur. Renal hilus böbrek içinde, 2,5cm. derinliğinde olan ve içinde renal pelvis, renal kaliks, renal damar ve sinirler ile değişik miktarlarda yağ dokusunun bulunduğu renal hilus olarak devam eder (45, 46, 47).

Her bir böbrek aortadan köken alan renal arterler ile kanlanır. 70 kilogramlık normal bir insanda her iki böbreğe giden kanın miktarı dakikada 1200ml. veya kalp debisinin %21'i kadardır. Renal arter hilustan böbreğe girdikten sonra önce interlobar daha sonra arkuat arterlere ayrılır. Arkuat arterlerden dik olarak

interlobuler arterler çıkar. Bu arterlerden glomerüle giden afferent arterioller köken alır. Glomerülü oluşturan kapillerler birleşerek efferent arteriollerini oluşturur. Efferent arterioller daha sonra dallanarak tubulusleri saran, böbrekteki ikinci kapiller ağ sistemi olan peritübüler kapiller ağ oluşturur. Peritübüler kapillerlerden gelen kan venöz sisteme dökülür. Oradan sırasıyla arteriel sistemle paralel olarak interlobuler ven, arkuat ven, interlobar ven ve renal veni takip eder. Renal venler ise inferior vena kavaya drene olur (46, 48).

Böbrek sagittal olarak kesildiğinde dışta korteks, içte medulla olmak üzere 2 kısımdan oluşur. Medulla, medullar piramit adı verilen 10-18 adet piramidal yapıdan oluşur. Piramitlerin tabanları kortikomedüller bölgede bulunurken, tepe kısımları kaliks içine kadar uzanır. Kaliks içine açılan bu kısımlara papilla ismi verilir. Korteks böbreğin dış kısmının yanı sıra medüller piramitler arasında da yer alır ve bu kısma Bertini'nin böbrek kolonları denir (49).

Böbrekte idrar oluşumunu sağlayan en küçük yapısal ve anatomik birim nefrondur. Her bir böbrekte her birinin idrar yapabilme fonksiyonu olan yaklaşık 1 milyon nefron bulunur. Böbrek yeni nefron rejenere edemez. Dolayısıyla hastalık, renal bir hasar veya yaşlanma ile nefron sayısında kademeli bir azalma olur (48, 49).

Her bir nefronun iki kısmı vardır.

- a) Glomerül; sıvının kandan filtre edildiği kısım,
- b) Tubulusler; filtre edilen sıvının idrara dönüştüğü proksimal ve distal tubuluslar, henle kulbu ve toplayıcı kanallardan oluşan kısımdır (47).

Glomerüller, proksimal ve distal tubulusler ve dış korteksteki nefronların Henle kulpları kortekste; toplayıcı kanallar, Henle kulpları ve vasa rectalar medullada bulunur. Nefronlar böbrek dokusunda ilerledikleri derinliğe göre, kortikal ve jukstaglomerüler olmak üzere iki tiptir. Glomerül, dalanan ve anastomozlar yapan ve epitelyal hücreler ile kaplı kapiller bir yumaktır. Bowman kapsülü dene bir yapı içinde bulunur. Glomerülden filtre edilen sıvı sırasıyla proksimal tubul, henle kulbu, distal tubul ve toplayıcı kanallardan geçer, renal papillaların içinden renal kalikse açılır. Oradanda renal pelvis ve üretere geçer (48, 49).

Distal tubulusun başlangıcı her nefronda afferent ve efferent arterioller ile temas halindedir ve bu üç yapı jukstaglomerüler apparatus denen yapıyı oluşturur. Bu apparatusun görevi renin salgılayarak kan basıncı üzerinde etkili olmak, glomerüler

filtrasyon ve renal kan akımının regülasyonunu idare etmektir. Jukstaglomerüler apparatusun distal tubulusteki değişiklik gösteren hücrelerine makula densa ismi verilir ve distal tubulusteki sıvının bileşimine göre jukstaglomerüler apparatusun aktivitesini ayarlar (46, 49).

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

- a) Glomerüler Filtrasyon: Glomerüldeki kanın plazmasının bir bölümü (yaklaşık 1/5'i) glomerüler membrandan filtre edilir.
- b) Tubuler Reabsorbsiyon: Filtre edilen sıvı, tubullerde ilerlerken su ve diğer gerekli maddeler reabsorbe edilir. İstenmeyen maddeler geri emilmez ve idrar oluşumuna katkıda bulunur.
- c) Tubuler Sekresyon: Plazmadaki bazı maddeler tubulleri döşeyen epitel hücrelerince doğrudan tubuler sıvı içine sekrete edilir (46, 48).

Böbrek kan akımının ve glomerüler filtrasyonun fizyolojik kontrolünde birçok faktör rol oynar. Afferent ve efferent arterioller de dahil olmak üzere bütün böbrek damarları özellikle sempatik sinir liflerinden zengindir. Böbrek sempatik sinirlerinin kuvvetli aktivasyonu, böbrek arteriollerini daraltabilir ve böbrek kan akımı ve glomerüler filtrasyon hızının azaltabilir. Bu savunma reaksiyonu böbrek medullasından salgılanan epinefrin ve norepinefrin aracılığı ile olur. Endotelin ise böbrek damarlarının hasar görmüş endotel hücrelerinden salınır. Glomerüler filtrasyonu azaltır ve böbrek vazokonstrüksiyonuna katkıda bulunur (50, 51).

Endotelden kaynaklanan nitrik oksit, böbrek damar direncini azaltır ve glomerüler filtrasyonu artırır. PGE₂, PGI₂ ve bradikinin de damarları genişleten ve glomerüler filtrasyonu artıran diğer otakoidlerdir (50, 51).

Böbreğin temel fonksiyonları;

- 1) İdrar oluşturarak; artık maddelerin eliminasyonu (üre, kreatinin, ürik asit, ilaçlar, toksinler) ve su dengesinin korunması (total vücut suyunun ve plazma osmolalitesinin ayarlanması), elektrolit ve asit baz dengesinin korunması (sodyum, potasyum, klor, kalsiyum, fosfat, magnezyum)
- 2) Hormonlar ve benzeri maddelerin sentezi (Renin, D vitamini, eritropoetin, prostoglandinler, kinin-kallikrein, growth faktörler), peptid yapılı hormonların yıkımı ve katabolizması (insülin, glukagon, parathormon, kalsitonin, prolaktin, büyüme

hormonu, vazopressin, gastrointestinal hormonlar), düşük molekül ağırlıklı proteinlerin katabolizması (haif zincirler, beta-₂ mikroglobulin) glukoneogenez ve lipid metabolizması (46).

2.6. İskemi Reperfüzyon Tedavi Seçenekleri

Kontrollü deneysel modellerde iskemi reperfüzyon hasarını başarıyla önleyen veya sınırlayan birçok tedavi stratejileri klinik pratik kullanımda şüpheli sonuçlar vermektedir. Veya insan klinik araştırmalarında kullanılmamaktadır. İskemi reperfüzyon hasarını azaltmada kombine stratejilerin etkinliğini bulan az sayıda çalışma vardır (52).

İskemik Önkoşullama

Dokunun ciddi iskemi-reperfüzyon öncesi, kısa süreli iskemi-reperfüzyon periyotlarına maruz bırakılmasıdır (53). Böylelikle doku uzun süreli iskemi reperfüzyona daha dirençli hale gelir. İskemik önkoşullama sikluslarının sayısı ve süresi arttıkça koruyuculuğuda artar (54). İskemik önkoşullamanın yararlı etkileri birçok yerde gösterilmiş olmasına rağmen insan klinik verileri sınırlıdır. Akut ve geç iskemik önkoşullamanın koruyucu etkilerinin temelini farklı mekanizmalar oluşturur. Pertussis duyarlı G proteinlerinin adenosin ya da A₁ adrenerjik reseptör aktivasyonu fosfolipaz C yada D stimülasyonu yolu ile akut önkoşullamanın kritik bir başlatıcısı olduğu görülmektedir, buda sırayla protein kinaz C'yi aktive eder. Akut önkoşullamanın yararlı etkilerinin sebebi ATP duyarlı potasyum kanallarının protein kinaz C bağımlı fosforilasyonudur (55). Akut önkoşullama hücre yüzeyine Protein kinaz C bağımlı 5'nükleotidaz translokasyonunda indükler. Bu hücresele adenosin yapımını artıran ve hücresele enerji depolarını destekleyerek ve lökosit yapışmasının önleyerek koruma sağlayabilen bir etkidir (55). Kısa ve uzamış iskemik hasar arasındaki zaman aralığı iki saatin üzerine çıktığında önkoşullamanın akut ve yararlı etkileri kaybediliyor olsada, eğer uzamış iskemik hasar ilk iskemi periyotlarından 24 saat sonra oluşursa önkoşullamanın gecikmiş bir koruyucu etkisi gözlenir (34). Akut yanıtta farklı olarak gecikmiş önkoşullama değişmiş gen ekspresyonuna bağlı olduğu kadar antioksidan enzimler, nitrik oksit sentaz ve ısı şok proteinlerini içeren yeni protein sentezine bağlıdır (34).

Antioksidan Tedavi

Çok sayıda deneysel hayvan çalışmaları iskemi reperfüzyon hasarının azaltmada ve önlemede antioksidan tedavinin etkinliğini göstermiştir.(E vitamini, N-Asetil-sistein, allopurinol, mannitol, demir şelatörleri, ACE inhibitörleri, kalsiyum kanal blokerleri, katalaz, süperoksit dismutaz) (52).

Antikompleman Tedavi

Kompleman sistem aktivasyonunun engellenmesi ile iskemi reperfüzyon hasarının azaldığı birçok hayvan deneyinde gösterilmiştir (56). İnsan C₅ için spesifik humanize edilmiş rekombinant tek zincir antikorunun kardiyopulmoner bypass ile koroner bypass ameliyatı geçirenlerde kompleman aktivasyonunu, lökosit aktivasyonunu, myokard hasarını, kan kaybını ve kognitif disfonksiyonu anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir (57). Ancak antikompleman sistemlerin insanda kullanımını hakkında yeterli klinik veri yoktur.

Antilökosit Tedavi

Lökosit aracılı iskemi reperfüzyon hasarını engellemeyi hedefleyen deneysel terapötik stratejiler inflamatuvar mediatör salınımının veya reseptör bağlanması, lökosit adezyon molekülü sentezinin veya lökosit endotel adezyonunun inhibisyonu üzerine odaklanmıştır (58). PAF, histamin, Lökotrien B₄, ve TNF alfa gibi aracı inflamatuvar maddelerin sentez veya reseptör etkileşimlerinin engellenmesi ile iskemi reperfüzyon hasarında fayda sağlanmıştır (58). Aspirin, glukokortikoidler, altın, D-penisilamin gibi antiinflamatuvar ilaçlar lökosit adezyon molekülü sentezi veya sitokin oluşumunu azaltırlar (58). Bu modellerin insanlardaki klinik kullanımına ait bilgiler henüz yetersizdir.

2.7. İloprost

Siklooksigenaz yolunun bir metaboliti olan prostoglandin I₂ (prostasiklin), lökositleri inaktive eder, lökotrienler gibi araşidonik asidin toksik metabolitlerini inhibe eder ve reperfüzyon hasarından iskemik dokunun mikrosirkülasyonunu korur. Pg I₂ güçlü sitoprotektif, antiagregan, ve vazodilatatör etkilere sahiptir (59, 60, 61).

Prostasiklin'in (Pgl₂) mikrovasküler kan akımı, trombosit agregasyonunun inhibisyonu ve vazodilatasyon üzerine önemli rolü vardır. İloprost benzer farmakokinetik özelliklere sahip bir Pgl₂ analogudur. Bu olumlu etkiler, iloprostun

mikrosirkülasyonda artış sağlaması ile elde edilmektedir. Ayrıca iloprost'un adezyon moleküllerinin ve koagülasyon son ürünlerinin üretimini azaltarak endotel hücreleri üzerinde koruyucu etkisi de vardır. Yüksek iloprost dozlarında; artmış vazodilatasyon kan akımının deriden kasa yönelmesiyle çalma fenomeni ile sonuçlanır. İloprostun antiplatelet ve diğer olumlu etkileri azalır. Ayrıca yüksek doz iloprost dozları, koroner arter hastalarında koroner akımdan çalma etkisine neden olmaktadır (62).

İloprost araşidonik asit metaboliti karakterinde yeni bir moleküldür. 1976'da Moncada ve Vane tarafından keşfedilmiştir. Bu yapının prostasiklin veya prostaglandin I₂ olarak adlandırılması, yapısal izolasyon ve kimyasal sentezlerden sonra olmuştur. İloprost prostasiklinin 2. kuşak bir yapısal analogudur. İloprost EP₁ reseptörlerine bağlanır. Normalde damar duvarı ve trombositlerden sentezlenen trombaksan A₂ normal hemostaz kontrolünde prostasiklin ile dengelenir. Trombositlerde bulunan araşidonik asit, siklooksigenaz yolu ile vazokonstrüktör trombaksan A₂'ye (Tx A₂) çevrilir. Kan dolaşımında prostasiklin seviyeleri oldukça düşüktür ve aterosklerozda vasküler dokularda prostasiklin(PgI₂) sentezi azalır (63, 64).

Prostasiklin trombosit agregasyonuna neden olan trombin, kollajen, adenosin difosfat'ı (ADP) inhibe eder. Sağlam organizmalarda vazodilatatör, hipotansif, antidiüretik ve kanama zamanının uzatıcı etkisi vardır. Ayrıca endotelden makrofaj ve trombositten büyüme faktörü salarak damar düz kas proliferasyonunu stimüle eder. Sağlıklı bireylerde mikrovasküler kan akımı, savunma sistemleri, hemostaz ve inflamasyonun regülasyonunda önemli rol oynar(65). Doku perfüzyon artışı ve antiplatelet etkiyle, direkt sitoprotektif etkinlik sağlar.

İloprost'un Farmakolojik Özellikleri

İloprost; araşidonik asitten sentezlenen endojen prostaglandin olan prostasiklinin (PgI₂) sentetik karboksilin analogudur. Prostasiklin organizmada en çok damar endotelince sentezlenir.

İloprost prostasiklinden farklı olarak C₁₈, C₁₉'da üçlü bağ, C₁₆'da metil grubu ve heterosiklik oksijen atomu yerine metilen grubu içerir. Bu moleküler farklılık iloprostun daha stabil molekül olmasını sağlar ve intravenöz, oral kullanıma olanak sağlar. İloprost oda ısısında 4 sene stabil olarak kalabilir. Dilüe edildikten sonra 24

saat stabildir (66).

İloprost'un Etkileri

İloprost aktive trombositlerden 5-hidroksi triptamin ve trombaksan gibi vazokonstrüktör ve zararlı sitokinlerin salınımını ve bu sayede trombozu, trombosit aktivasyonunu inhibe ederek gerçekleştirir. Trombosit agregasyonunu inhibe eder. Aktif madde iloprost trombosit adezyon inhibisyonu için PgI_2 'den daha düşük seviyelere ihtiyaç duyar. Lökosit aktivasyonunu ve adezyonunu inhibe eder. Lökositlerden salınan lökotrienler, serbest oksijen radikalleri, proteolitik enzim salınımı azalır. Bu şekilde endotel koruyucu etki göstermiş olur (65).

İloprost vazodilatatör etkiye sahiptir. Lökotrienlerin ve trombaksanın arteriel düz kas hücrelerindeki vazospastik etkilerini önler. Hipoksik damar yüzeyinde permeabiliteyi azaltır. Endotel bütünlüğünü korur. Trombojenik aktiviteyi azaltarak endotel fonksiyonlarını korur (65).

İloprost'un Farmakokinetik Özellikleri

İntravenöz infüzyon başladıktan 10-20 dakika gibi kısa bir süre sonra kararlı durum plazma düzeylerine ulaşır. Kararlı durum plazma seviyeleri infüzyon hızı ile doğru orantılıdır. 3ng/kg/dk infüzyon hızı ile yaklaşık 135pg/ml plazma konsantrasyonu elde edilir. İnfüzyonun sona erdirilmesinden sonra yüksek metabolizma hızı nedeni ile iloprost plazma konsantrasyonu hızla düşer. Plazma yarı ömrü 0,5 saattir. Bunun sonucu olarak infüzyonun sona ermesinden hemen 2 saat sonra madde düzeyi denge konsantrasyonunun %10'un altına düşer. Karaciğer sirozlu hastalarda ve diyalize gerek gösteren kronik böbrek yetmezlikli hastalarda iloprost klirensi 2-4 misli azalır. İloprost plazma albüminine %60 oranında bağlanır. İloprost metabolitlerine dönüşerek elimine olur. Ana metabolit tetranor-iloprost'tur ve farmakolojik olarak inaktiftir. İloprost metabolitlerinin %80'i böbrek yoluyla, %20'si safra yolu ile atılır (66).

İloprost'un Klinik Endikasyonları

İloprost antiagregan, vazodilatatör, trombosit inhibisyonu yapıcı etki, lökosit adezyonu inhibisyonu, mikrovasküler kan akımında artış nedeniyle periferik tıkaçıcı damar hastalıklarında terapötik etkiye sahiptir (67). Primer hastalık ne olursa olsun (periferik arter hastalığı, tromboanjitis obliterans, vaskülitler) İloprost tedavisi

mikrodolaşımı düzenler (63).

Kollajen doku hastalığının komponenti olan Raynoud fenomeni vazospazm ile seyrederek. İloprost infüzyon tedavisinin semptomları geriletmediği klinik olarak gözlenmiştir (65).

Venöz ülserlerinde tedavisinde iloprost kullanımı faydalı bulunmuştur(68).

Pulmoner hipertansiyon evre III ve evre IV hastalarda iloprost kullanımının hastalarda prognozu ve hayat kalitesini artırdığı gözlenmiştir. Pulmoner hipertansiyonlu hastalarda intravenöz uzun kullanımın yan etkilerini azaltmak için 1-2 sene süre ile inhaler olarak da kullanılabilir (69, 70).

Aynı zamanda iskemi reperfüzyon hasarına bağlı gelişen böbrek uzak organ hasarında da iloprostun hasarı azaltmada etkin olduğu gösterilmiştir (71, 72, 73).

İloprost'un Kontrendikasyonları

Gebelik ve laktasyon döneminde, iloprostta aşırı duyarlılık hallerinde kontrendikedir. Kanama riskini artırabileceği hallerde (aktif peptik ülser, intrakranial hemoraji gibi..) kullanılmamalıdır. Ciddi koroner arter hastalığı olanlarda, unstabil anjina pectoris olanlarda, son altı ay içinde myokard infarktüsü geçirmiş olanlarda anjinayı provake edebileceğinden kontrendikedir (66).

İloprost'un Kullanılışı

Piyasada ticari isim olarak İloprost 20 1ml.(Bayer Schering Pharma AG®, Berlin, Germany) olarak mevcuttur. 1ml'lik ampulde 20microgram iloprost bulunmaktadır. Ampuller dilüe edilerek infüzyon pompası ile kullanılmalıdır. Asla intramuskuler ve direkt intravenöz şekilde kullanılmamalıdır. Solüsyon kullanım öncesi hazırlanmalı 24 saat içinde kullanılmayan solüsyonlar atılmalıdır. Başka bir ilaç ile verilmemelidir. 20 mikrogramlık ampul 100cc %0,9'luk NaCl veya %5 dekstroz ile dilüe edilerek 0,2mikrogram/ml konsantrasyonda 0,5-2ng/kg/dk dozda verilmelidir (66).

İloprost'un Yan Etkileri

Sıklıkla duyulan ve doz bağımlı olan yan etkiler flushing (%58) ve baş ağrısıdır(%68). Gastrointestinal yan etkiler (bulantı, kusma, dispepsi) daha az görülür(%29). Bütün yan etkiler doz azaltıldığında kaybolur. İnfüzyon yerinde lokal etkiler gözlenebilir (66).

2.8. Levosimendan

Levosimendan'ın Etkileri

Levosimendan kalp yetersizliğinin akut alevlenmesinin kısa dönem tedavisi için geliştirilmiş, myokardın kalsiyuma olan duyarlılığını artıran ve vazodilatatör etkiye sahip yeni bir inotropik ajandır (74). Teorik olarak bu ajanlar, hücre içi kalsiyum ve cAMP düzeylerini artırmaksızın, troponin C'ye bağlanarak kontraktıl proteinlerin kalsiyuma duyarlılığını artırarak kardiyak performansı iyileştirirler (75). Bu nedenle cAMP bağımlı ajanların olumsuz etkilerini taşımadıkları ileri sürülmüştür (76). Ayrıca levosimendan fosfodiesterazı selektif olarak inhibe eder. Diğer kalsiyum duyarlılaştırıcıların fosfodiesteraz inhibisyonu terapötik dozlarda izlenirken, levosimendanın bu etkisi yalnızca terapötik düzeyin üzerindeki dozlarda izlenmektedir (76). Levosimendanın pozitif inotropik etkisi kalsiyum konsantrasyonuna bağlıdır. Sitozolik kalsiyum konsantrasyonunun daha fazla olduğu sistolde troponin C'nin N-terminal ucuna bağlanıp, levosimendan bağlanma yerinin ortaya çıkmasına neden olur. Böylece kalsiyum-troponin C bağlantısının stabilize eder (77). Buna karşın, kalsiyum konsantrasyonu ve sensitizasyonu diyastolde azaldığı için diyastolik relaksasyonun etkilenmediği ya da iyileştiği ileri sürülmüştür. Sonuçta levosimendan proaritmijenik etki göstermeden ve enerji tüketimini artırmadan kontraktiletiyi artırmaktadır (78).

Levosimendan myosit ve damar duvarındaki ATP bağımlı potasyum kanallarını açarak, sistemik vasküler yatakta vazodilatasyona, myokardial ön yük ve ard yükte azalmaya neden olur (79). Ayrıca koroner arterlerde de vazodilatasyon yaparak myokard kan akımını artırdığı, buna karşın myokardı oksijen tüketimini artırmadığı tesbit edilmiştir (79). Levosimendanın ATP bağımlı potasyum kanal açıcı etkisi ilacın iskemiye karşı koruyucu etkileri olmasını da sağlamaktadır (80). İskemi reperfüzyonun apoptozisi tetikleyerek doku kaybına neden olduğu bilinmektedir. Myozit kültürleri üzerinde yapılan bir çalışmada, oksidatif strese bağlı apoptozis, levosimendan ile engellenmiştir (81). Ayrıca oksijen tüketimi üzerine olumlu etkilerinin olması ve iskemi reperfüzyon sonrası enerji dengesi üzerinde nötral etkisinin olması bileşiğin antiiskemik etkisine katkıda bulunmaktadır (78).

Levosimendan in vitro ve in vivo olarak vazodilatasyon oluşturmaktadır. Levosimendanın insan internal mammarian arter, insan internal torasik arter, domuz

koroner arteri ve sıçan mezenterik arterinde gevşeme oluşturduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (82, 83, 84, 85, 86).

Levosimendanın vazodilatör etkinliği yapılan çalışmalarda iki yönlü olarak ortaya konmuştur. Birincisi ATP bağımlı potasyum kanallarını uyararak etkili olmaktadır (87). İkinci yol ise levosimendanın vasküler düz kasta desensitizasyon yaptığı düşünülmektedir. Kontraktıl agonistler protein kinaz C aktivasyonu yolu ile damar düz kasında kalsiyum duyarlılığını artırır. Potasyum kanallarının açılması ile meydana gelen hiperpolarizasyonun agonist ile indüklenen fosfatidil inositol difosfat hidrolizini azaltarak hem inositol trifosfata duyarlı depolardan kalsiyum mobilizasyonunu hem de protein kinaz C aktivasyonunu baskıladığı öne sürülmüştür. Böylece potasyum kanallarının açılması hem kalsiyum miktarını hem de kontraktıl proteinlerin kalsiyum duyarlılığını azaltarak kalsiyum duyarsızlaşması yaratmaktadır (88). Deneysel olarak domuz koronerinde levosimendanın kontraktıl proteinlerin kalsiyum duyarlılığını azalttığı gösterilmiştir. Levosimendanın relaksasyon etkisinin endoteli sağlam arterlerde daha az olduğu da çalışmada gösterilmiştir (85). Levosimendanın aktif metaboliti olan OR-1896'nda vazodilatör etkinlikte olduğu saptanmıştır.(89).

Levosimendan'ın Farmakolojik Özellikleri

Kalsiyum duyarlaştırıcı sınıfta yer alan kardiyotonik bir ilaçtır. Pozitif inotropik ve vazodilatördür. Orta derecede lipofilik zayıf asidik özelliindedir. Levosimendan doza bağımlı olarak kalp debisi ve stroke volümünde artışa, pulmoner kapiller uç basınçta, ortalama arteriel basınçta ve toplam periferik rezistansta azalmaya yol açar. Önerilen doz aralığında levosimendan, hemodinamik etkileri kendisi ile benzer olan ve terapotik aktiviteye sahip bir metabolit ortaya çıkarır(OR-1896). Dolayısıyla bu etkiler, 24 saatlik levosimendan infüzyonunun kesilmesinden sonra 7-9 gün kadar devam eder. Tavsiye edilen infüzyon hızlarında plazma ketakolamin düzeylerini yükseltmez (90).

Levosimendan'ın Farmakokinetik Özellikleri

Levosimendan intravenöz yolla uygulandıktan sonra hızlı ve lineer bir dağılım gösterir. Sürekli sabit sabit dozda infüzyon yapıldığında plazma doruk konsantrasyonuna 4.saatte ulaşırken, yükleme yapıldığında 12dakika sonra plazma

doruk konsantrasyonuna ulaşmaktadır. Levosimendan %95-98 plazma proteinlerine bağlanır. Eliminasyonu konjugasyon ve sekresyon yoluyla karaciğer ve böbreklerden gerçekleşir. Aktif metaboliti OR-1896 %40 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Levosimendan ve metabolitleri renal yetmezlikten etkilenmezler (78).

Levosimendan'ın Endikasyonları

Kalsiyum duyarlaştırıcı ve potasyum kanal açıcı etkisi ile inotropik desteğin gerekli görüldüğü durumlarda ve koroner bypass cerrahisi sonrası destek tedavisinde infüzyon yolu ile endikedir (90). İnfüzyon süresi 24 saattir.

Levosimendan'ın Kontrendikasyonları

Ventrikül doluşu ya da çıkış yolunu etkileyen belirgin mekanik obstrüksiyon, ciddi böbrek yetmezliği, ciddi karaciğer yetmezliği, ciddi hipotansiyon ve taşikardi ve Torsade de Pointes geçmişi olanlarda kullanılmamalıdır (90, 78).

Levosimendan'ın Yan Etkileri

En sık görülen yan etkileri baş ağrısı, hipotansiyon, bulantı sersemlik hissi, taşikardi olduğu tesbit edilmiştir (90). Kalp hızı üzerine etkisi doza bağlıdır ve yüksektir. Bu durum koroner arter hastalarında kullanımda önem kazanır (74, 76, 91).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 10.03.2009 tarih 107/2009 kayıt numaralı onayı sonrasında çalışma yapıldı. Deney hayvanları Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (TİCAM) temin edildi. Ortalama ağırlıkları 250-300gr. olan 32 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan randomize olarak eşit sayıda (n = 8) 4 gruba ayrıldı. Sıçanlar deney süresince 12'şer saatlik aydınlık-karanlık ışıklandırması olan ısı 20-22 °C ve nemi %45-%50 otomatik olarak ayarlanan odalarda yaşatıldı. Bu süreçte tüm sıçanlar şeffaf kafeslerde tutuldu, standart sıçan yemi ile beslendi ve çeşme suyu verildi.

3.1. Deneklerin Hazırlanması ve Operasyon Tekniği

Deneyde kullanılacak tüm sıçanlar yapılacak işlemler öncesinde tartılarak vücut ağırlıkları kaydedildi. Tüm sıçanlara 8 saat açlık sonrasında intramuskuler olarak 50mg/kg Ketamine Hidroklorür (Ketalar® 50mg/ml flakon, Pfizer) anestezisi verildi. Gerekli olduğunda deney süresince bir kez olmak üzere ek doz yapılması planlandı. Sıçanlar ısıtıcı lamba altında supin pozisyonda masaya yatırıldı. Denekler sarı renkli intraket ile kuyruk veninden cut-down yöntemi ile kanüle edildi. Ciltleri aseptik olarak hazırlanan sıçanlara ksifoidin hemen altından pubisin 0,5 cm. üstüne kadar orta hat median laparotomi yapıldı. Laparotomi sonrası barsaklar nemli gazlı bez yardımı ile sağa deviye edildi. İnfrarenal abdominal aorta ve sol böbrek künt diseksiyonla explore edildi. Tüm sıçanlara antikoagülan amaçlı düşük doz (100ü/kg) heparin (Nevparin® 25000 IU 5ml. flakon, Mustafa Nevzat) yapıldı. Deney süresince sıvı resüsitasyonu amacıyla 10ml/kg %0,9'luk NaCl kuyruk veninden verildi. İnfüzyon Braun® Perfüzetör yardımı ile gerçekleştirildi. İnfrarenal abdominal aortaya atravmatik mikrovasküler klemp (Novaclip® 12 mm. Angle) kondu. Klemp sonrasında peritoneal boşluğa yaklaşık 5ml.serum fizyolojik sıkıldı. Karın 3 adet ipek dikiş ile yaklaştırıldı. 1 saatlik iskemiye takiben 2 saatlik reperfüzyon periyodu uygulandı. Aortik iskemi klempleme işlemi sonrasında aortada pulsasyon kaybı, reperfüzyon ise klempin kaldırılmasından sonra aortada pulsasyon varlığı ile takip edildi. Deneyin sonunda tüm gruplarda sıçanların sol böbrekleri alındı. İşlem sonrası sıçanlar sakrifiye edildi. Böbrek dokuları %10'luk formaldehit solüsyonu içinde saklandı.

3.2. Deney Grupları

Kontrol Grubu (Grup K) (n=8)

Genel cerrahi hazırlık ve anestezi indüksiyonu sonrasında median laparotomi yapılarak infrarenal aort eksplore edildi. Aort oklüde edilmedi. Karın içine serum fizyolojik enjekte edilerek karın 3 adet ipek ile yaklaştırıldı. Diğer gruplara uygulanan 1 saat iskemi, 2 saat reperfüzyon süresi tamamlandı. İşlem sonunda sıçanların sol böbrekleri alınarak sakrifiye edildi.

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

Genel cerrahi hazırlık ve anestezi indüksiyonu sonrasında median laparotomi yapılarak infrarenal aort eksplore edildi. Aort künt diseksiyonla dönüldü ve atravmatik mikrovasküler klemp yerleştirildi. Karın içine serum fizyolojik enjekte edilerek karın 3 adet ipek ile yaklaştırıldı. 1 saatlik iskemi ardından ipekler alındı. Mikrovasküler klemp kaldırıldı. Karın katları tekrar yaklaştırıldı. 2 saatlik reperfüzyon periyodunun ardından sol böbrek alınarak sıçanlar sakrifiye edildi.

İloprost Grubu (Grup İR+İL) (n=8)

Genel cerrahi hazırlık ve anestezi indüksiyonu sonrasında median laparotomi yapılarak infrarenal aorta eksplore edildi. Aort künt diseksiyonla dönüldü ve atravmatik mikrovasküler klemp yerleştirildi. Karın içine serum fizyolojik enjekte edilerek karın 3 adet ipek ile yaklaştırıldı. 1 saatlik iskemi periyodu sonrasında karın açıldı mikrovasküler klemp kaldırıldı. Karın katları sıvı kaybını engellemek amacıyla tekrar yaklaştırıldı. Reperfüzyon periyodunun başlamasıyla birlikte 20 ng/kg/dk dozunda iloprost (İlomedin® 20 mcg/ml, Schering) infüzyonuna başlandı ve 2 saat boyunca devam edildi. İnfüzyon kuyruk veninden Braun® Perfüzör yardımıyla gerçekleştirildi. Reperfüzyon süresi dolduğunda sıçanların sol böbrekleri alınarak sakrifiye edildi.

Levosimendan Grubu (Grup İR+LV) (n=8)

Genel cerrahi hazırlık ve anestezi indüksiyonu sonrasında median laparotomi yapılarak infrarenal aort eksplore edildi. Aort künt diseksiyonla dönüldü ve atravmatik mikrovasküler klemp yerleştirildi. Karın içine serum fizyolojik enjekte edilerek karın 3 adet ipek ile yaklaştırıldı. 1 saatlik iskemi periyodu sonrasında karın

açıldı mikrovasküler klemp kaldırıldı. Karın katları sıvı kaybını engellemek amacıyla tekrar yaklaştırıldı.Reperfüzyon periyodunun başlamasıyla birlikte ilk 15 dakika 25 micg/kg dozunda levosimendan (Sımdax® 2,5mg/ml, Abbott) yükleme dozu infüzyon olarak verildi. Ardından 0,2 micg/kg/dk idame olarak infüzyon verildi. İnfüzyon kuyruk veninden Braun® Perfüzetör yardımıyla gerçekleştirildi. 2 saatlik reperfüzyon süresi dolduğunda sıçanların sol böbrekleri alınarak sakrifiye edildi.

3.3. Böbrek Dokularının Histopatolojik İncelenmesi

Histopatolojik inceleme için böbrek dokuları ayrı ayrı %10'luk tamponlu nötral formaldehit çözeltisinde fikse edildi. Örneklerden parafin bloklar hazırlandı. Bu parafin bloklardan mikrotom yardımı ile kesitler alınarak hematoksilin eozin (H+E) ile boyandı. Histopatolojik inceleme ışık mikroskobu ile yapıldı.

3.4. Histopatolojik Skorlama

Skorlama yapılırken preparatlarda; bulanık şişme, akut tubuler nekroz, iltihabi hücre infiltrasyonu, ödem, konjesyon değerlendirildi.

Akut tubuler nekroz (ATN) için;

- 0: Değişiklik yok
- 1: Minimal ATN, %5'den daha az
- 2: Hafif ATN, %5-%25
- 3: Orta ATN, %25-%75
- 4: Şiddetli ATN, %75'den fazla

Bulanık şişme, iltihabi hücre infiltrasyonu, ödem, konjesyon için;

- 0: Değişiklik yok
- +1: Fokal, minimal
- +2: Multifokal, orta
- +3: Multifokal, yoğun

3.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmede SPSS paket programı kullanıldı. Çalışmada kontrol grubu, iskemi reperfüzyon grubu, iloprost grubu, levosimendan grubu arasındaki farkın belirlenmesinde nonparametrik Kruskal Wallis testi, ikili gruplar arası istatistiksel değerlendirmesinde Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

Kruskal Wallis testi için $p < 0.01$, Mann Whitney U testi için $p < 0,05$ değerleri

istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Gruplara ait histopatolojik skorlama Tablo 4.1, Tablo 4.2, Tablo 4.3, Tablo 4.4 de gösterilmiştir. Tüm gruplara ait böbrek doku kesitlerinin mikroskopik değerlendirilmesinde ödem saptanmadığı için değerlendirmeye alınmamıştır.

Tablo 4.1. Kontrol grubu histopatolojik skorlaması

	Denek	Bulanık Şişme	Tubuler Nekroz	İltihabi Hücre İnfiltrasyonu	Ödem	Konjesyon
G	1	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Fokal,minimal
R	2	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Multifokal, orta
U	3	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Fokal,minimal
P	4	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Fokal,minimal
	5	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Fokal,minimal
K	6	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Fokal,minimal
	7	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Fokal,minimal
	8	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Fokal,minimal

Tablo 4.2. İskemi/Reperfüzyon(İ/R) grubu histopatolojik skorlaması

	Denek	Bulanık Şişme	Tubuler Nekroz	İltihabi Hücre İnfiltrasyonu	Ödem	Konjesyon
G	1	Multifokal,orta	Hafif ATN,%5-25	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Multifokal,orta
R	2	Multifokal,yoğun	Orta ATN,%25-75	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Multifokal,orta
U	3	Multifokal,yoğun	Hafif ATN,%5-25	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Multifokal,yoğun
P	4	Multifokal,yoğun	Hafif ATN,%5-25	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Multifokal,yoğun
	5	Multifokal,yoğun	Orta ATN,%25-75	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Multifokal,orta
İ/R	6	Multifokal,yoğun	Orta ATN,%25-75	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Multifokal,orta
	7	Multifokal,yoğun	Hafif ATN,%5-25	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Multifokal,orta
	8	Multifokal,yoğun	Hafif ATN,%5-25	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Multifokal,yoğun

Tablo 4.3. İ/R+İloprost grubu histopatolojik skorlaması

	Denek	Bulanık Şişme	Tubuler Nekroz	İltihabi Hücre İnfiltrasyonu	Ödem	Konjesyon
G	1	Multifokal,orta	Minimal ATN,% 5	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Fokal, minimal
R	2	Multifokal,orta	Minimal ATN,% 5	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Multifokal, orta
U	3	Multifokal,orta	Minimal ATN,% 5	Multifokal,orta	Değişiklik yok	Multifokal, yoğun
P	4	Multifokal,orta	Hafif ATN.%5-25	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Multifokal, yoğun
	5	Fokal,minimal	Minimal ATN,% 5	Multifokal,orta	Değişiklik yok	Multifokal, yoğun
İ/R	6	Fokal,minimal	Minimal ATN,% 5	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Multifokal, orta
+	7	Multifokal,orta	Hafif ATN.%5-25	Multifokal,orta	Değişiklik yok	Multifokal, orta
İL	8	Fokal,minimal	Minimal ATN,% 5	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Multifokal, orta

Tablo 4.4. İ/R+Levosimendan grubu histopatolojik skorlaması

	Denek	Bulanık Şişme	Tubuler Nekroz	İltihabi Hücre İnfiltrasyonu	Ödem	Konjesyon
G	1	Fokal,minimal	Minimal ATN,% 5	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Multifokal, orta
R	2	Multifokal,orta	Hafif ATN.%5-25	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Multifokal, orta
U	3	Multifokal,orta	Minimal ATN,% 5	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Multifokal, orta
P	4	Multifokal,yoğun	Minimal ATN,% 5	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Multifokal, orta
	5	Multifokal,yoğun	Minimal ATN,% 5	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Multifokal, yoğun
İ/R	6	Multifokal,orta	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Fokal, minimal
+	7	Multifokal,orta	Minimal ATN,% 5	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Multifokal, orta
LV	8	Fokal,minimal	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Değişiklik yok	Fokal, minimal

Dört grup karşılaştırmasında Kruskal Wallis testinde bulanık şişme için $X^2=24,369$ ve $p=0,0001$ olarak hesaplanmıştır. $p<0,01$ olduğundan gruplar arası anlamlı fark olduğu görülmüştür. Tubuler nekroz için $X^2=24,949$ ve $p=0,0001$ olarak

hesaplanmıştır. $p < 0,01$ olduğundan tubuler nekroz içinde gruplar arası anlamlı fark olduğu tesbit edilmiştir. İltihabi hücre infiltrasyonu için $X^2=10,156$ $p=0,012$ ve $p > 0,01$ olduğundan istatistiksel olarak gruplar arası anlamlı farklılık tesbit edilememiştir. Dört grup karşılaştırmasında konjesyon için $X^2=14,546$ ve $p=0,001$ olarak saptanmış ve $p < 0,01$ olduğundan sonuç istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 4.5. Kruskal Wallis Testi İle Dört Grup Karşılaştırması

Kruskall Wallis Testi			
	Gruplar	n	Mean Rank
Bulanık şişme	Gr. K	8	4,81
	Gr. İR	8	26,81
	Gr. İR+İL	8	15,50
	Gr. İR+LV	8	18,88
Tubuler nekroz	Gr. K	8	5,50
	Gr.2 İR	8	27,56
	Gr.3 İR+İL	8	18,38
	Gr.4 İR+LV	8	14,56
İltihabi hücre infiltrasyonu	Gr. 1 K	8	14,06
	Gr.2 İR	8	19,50
	Gr.3 İR+İL	8	22,00
	Gr.4 İR+LV	8	10,44
Ödem	Gr. 1 K	8	16,50
	Gr.2 İR	8	16,50
	Gr.3 İR+İL	8	16,50
	Gr.4 İR+LV	8	16,50
Konjesyon	Gr. 1 K	8	7,06
	Gr.2 İR	8	22,13
	Gr.3 İR+İL	8	20,56
	Gr.4 İR+LV	8	16,25

İkili gruplara arası istatistiksel değerlendirmede Mann Whitney U testi kullanıldı.Sonuçlar tablo olarak gösterildi. $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo 4.6. Kontrol-İskemi reperfüzyon grubu arasındaki istatistiksel analiz

	<i>Bulanık şişme</i>	<i>Tubuler Nekroz</i>	<i>İltihabi hücre infiltrasyonu</i>	<i>Ödem</i>	<i>Konjesyon</i>
Kontrol	P<0,05	P<0,05	P>0,05	Değerlendirilmedi	P<0,05
İ/R	Anlamlı	Anlamlı	Anlamlı	Değil	Anlamlı

Tablo 4.7. Kontrol-İloprost grubu arasındaki istatistiksel analiz

	<i>Bulanık şişme</i>	<i>Tubuler Nekroz</i>	<i>İltihabi hücre infiltrasyonu</i>	<i>Ödem</i>	<i>Konjesyon</i>
Kontrol	P<0,05	P<0,05	P>0,05	Değerlendirilmedi	P<0,05
İloprost	Anlamlı	Anlamlı	Anlamlı	Değil	Anlamlı

Tablo 4.8. Kontrol-Levosimendan grubu arasındaki istatistiksel analiz

	<i>Bulanık şişme</i>	<i>Tubuler Nekroz</i>	<i>İltihabi hücre infiltrasyonu</i>	<i>Ödem</i>	<i>Konjesyon</i>
Kontrol	P<0,05	P<0,05	P>0,05	Değerlendirilmedi	P<0,05
Levosimendan	Anlamlı	Anlamlı	Anlamlı	Değil	Anlamlı

Tablo 4.9. İskemi reperfüzyon-İloprost grubu arasındaki istatistiksel analiz

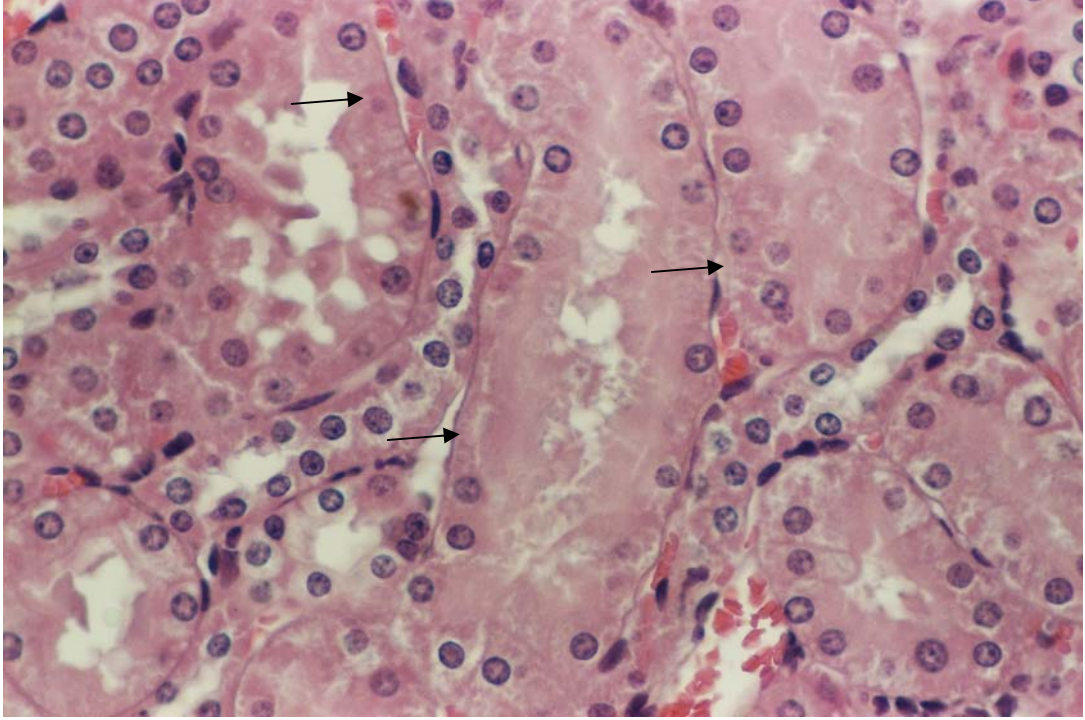
	<i>Bulanık şişme</i>	<i>Tubuler Nekroz</i>	<i>İltihabi hücre infiltrasyonu</i>	<i>Ödem</i>	<i>Konjesyon</i>
İ/R	P<0,05	P<0,05	P>0,05	Değerlendirilmedi	P>0,05
İloprost	Anlamlı	Anlamlı	Anlamlı Değil		Anlamlı Değil

Tablo 4.10. İskemi reperfüzyon-Levosimendan grubu arasındaki istatistiksel analiz

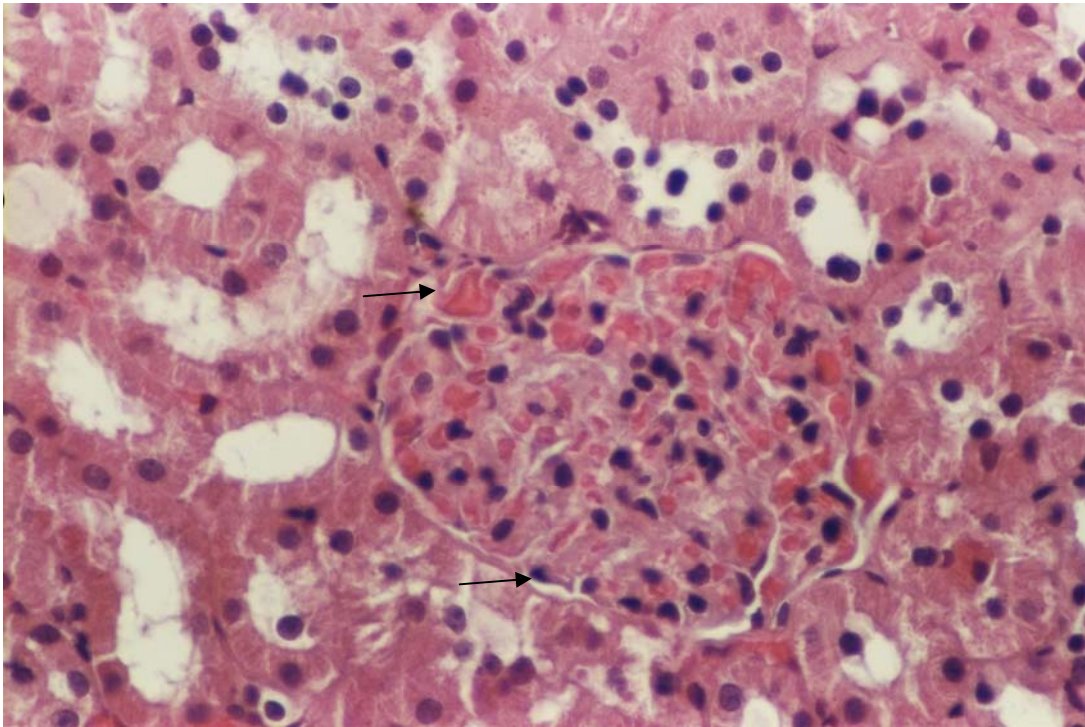
	<i>Bulanık şişme</i>	<i>Tubuler Nekroz</i>	<i>İltihabi hücre infiltrasyonu</i>	<i>Ödem</i>	<i>Konjesyon</i>
İ/R	P<0,05	P<0,05	P<0,05	Değerlendirilmedi	P>0,05
Levosimendan	Anlamlı	Anlamlı	Anlamlı		Anlamlı Değil

Tablo 4.11. İloprost-Levosimendan grubu arasındaki istatistiksel analiz

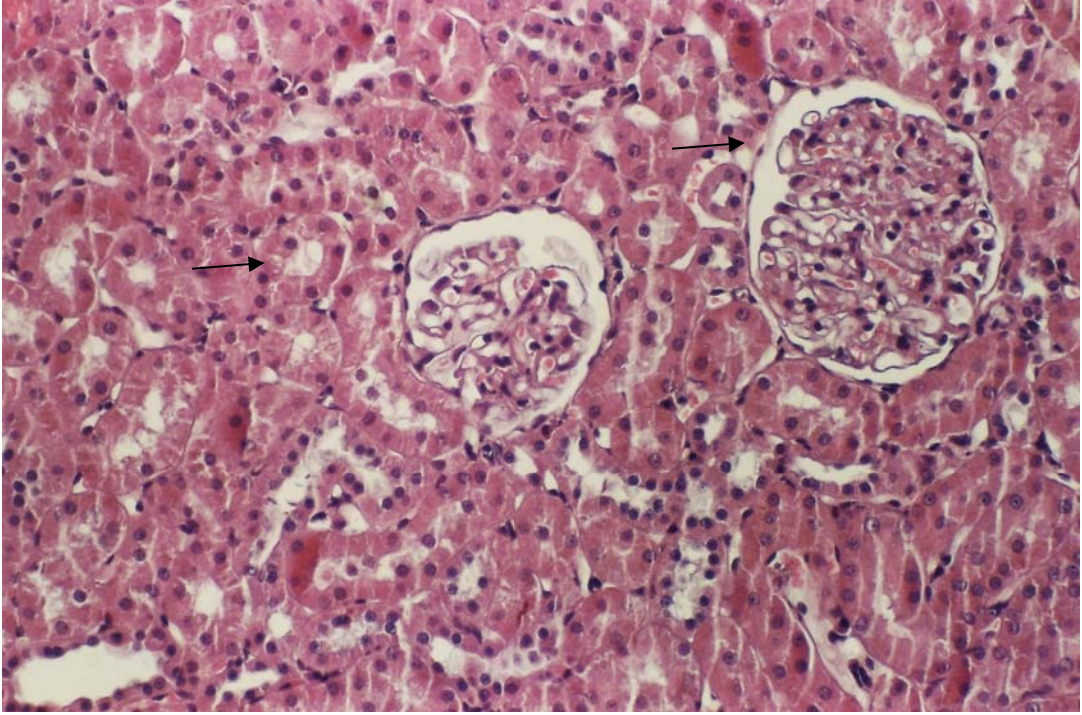
	<i>Bulanık şişme</i>	<i>Tubuler Nekroz</i>	<i>İltihabi hücre infiltrasyonu</i>	<i>Ödem</i>	<i>Konjesyon</i>
İloprost	P>0,05	P>0,05	P<0,05	Değerlendirilmedi	P>0,05
Levosimendan	Anlamlı Değil	Anlamlı Değil	Anlamlı		Anlamlı Değil



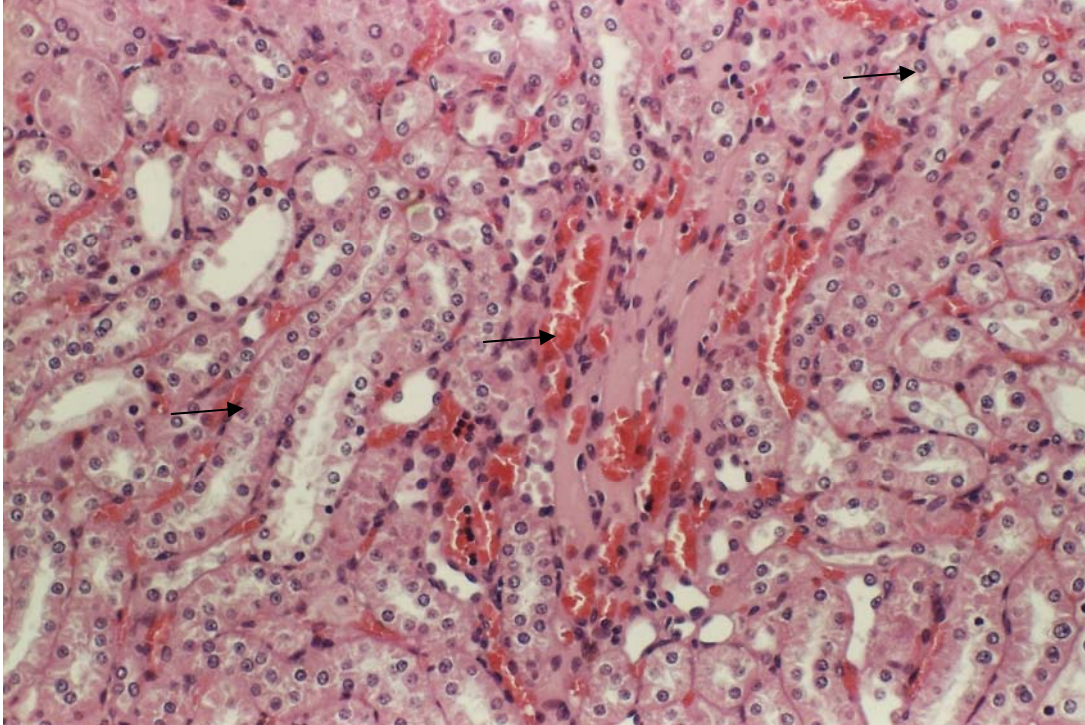
Şekil 4.1. İskemi Reperfüzyon grubunda yoğun bulanık şişme ve orta tubuler nekroz (H+E 40)



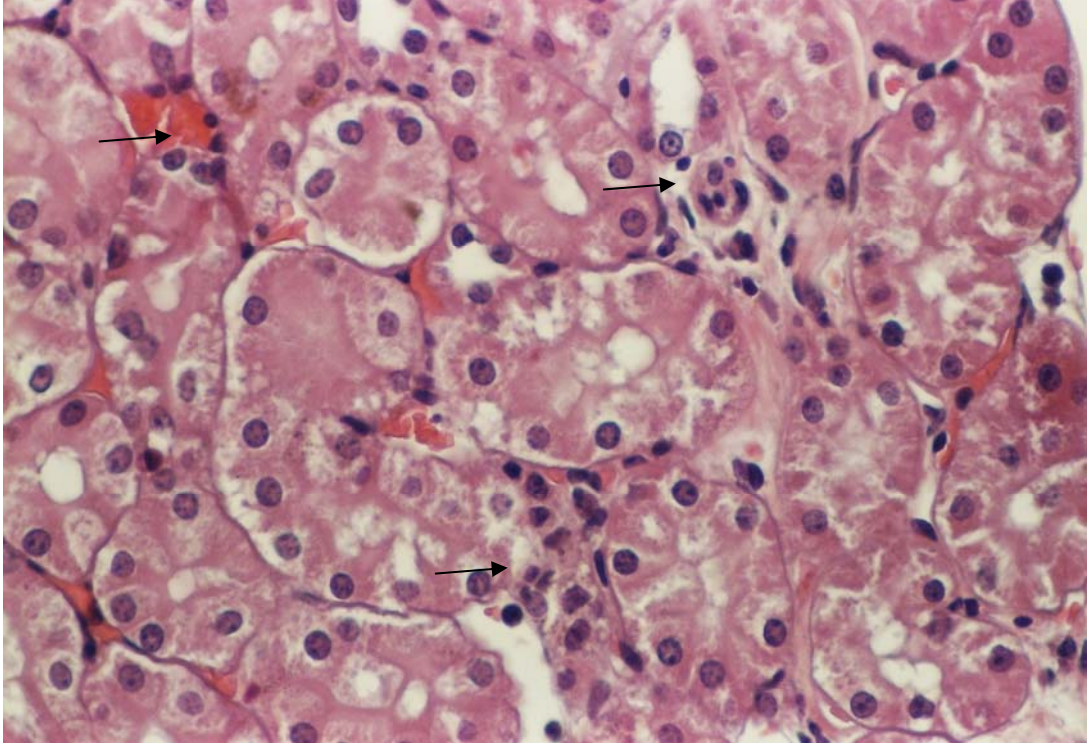
Şekil 4.2. İskemi Reperfüzyon grubunda glomerülde yoğun konjesyon (H+E 40)



Şekil 4.3. Levosimendan grubunda glomerülde minimal konjesyon ve tubulus epitelinde minimal ödem (H+E 20)



Şekil 4.4. İloprost grubunda tubuluslarda minimal bulanık şişme (H+E 20)



Şekil 4.5. Levosimendan grubunda minimal PMNL ve lenfosit infiltrasyonu (H+E 40)

5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, sıçan infrarenal abdominal aortasında oklüzyon, reperfüzyon sonrası, böbreklerde oluşan iskemi-reperfüzyon hasarına iloprost (Pgl₂ analogu) ve levosimendanın (Kalsiyum duyarlaştırıcı) etkilerini araştırmaktır.

Alt ekstremitelerde akut iskemi reperfüzyon hasarı özellikle aort cerrahisinde abdominal aortaya geçici süre kros klemp uygulamasında ve tek veya çift taraflı akut femoral arter tıkanıklıklarında ortaya çıkmaktadır. Özellikle infrarenal aortaya kros klemp yerleştirilmesiyle oluşan alt ekstremitte iskemi reperfüzyon dönemi sonrasında oluşan uzak organ hasarında böbrekler hedef organ konumundadır ve bu durum klinik olarak önem arz etmektedir.

Deneysel alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarına böbreğin verdiği yanıt sıçanlarda çok iyi belirlenmiş ve çalışmaların çoğunda sıçanlar tercih edilmiştir (73, 92, 93, 94, 95). Bu bilgilerden yola çıkarak bu çalışmada S.Dawley cinsi dişi sıçanlar kullanılmıştır.

İskemi reperfüzyon sonrası böbrek hasarının patofizyolojisi oldukça karmaşıktır ve çok sayıda mediatör işe karışır. İskemi reperfüzyon sırasında; mitokondrial oksidatif fosforilasyonun değişmesi, ATP'nin azalması, hücre içi kalsiyum artışı ve hücre iskeleti ve membran fosfolipidlerinin bozulmasına öncülük eden proteaz ve fosfotazların aktive olması sonucu aşırı miktarda serbest oksijen radikalleri oluşarak oksidatif strese neden olur(94).

Böbreklerde deneysel iskemi reperfüzyon hasarının etkilerinin ortaya çıkması için belli bir iskemi süresine gerek vardır. Sıçan böbreğinde Paller ve Arkadaşları 60 dakikalık iskemi süresinden sonra reperfüzyon hasarının ortaya çıktığını göstermişlerdir (39). Aynı literatürde doku örneklerinin en erken 4 saatte ortaya çıktığı, tepe noktasında 24 saatte ulaştığı saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da 60 dakikalık iskemi süresini 120 dakikalık reperfüzyon süresi izlemiştir.

Abdominal aort cerrahisinde postoperatif dönemde morbidite ve mortaliteyi etkileyen en önemli komplikasyon akut böbrek yetmezliğidir ve oluşmasında en önemli fizyopatolojik mekanizma iskemi reperfüzyon hasarıdır (35). Böbrek iskemi reperfüzyon hasarında, iskemi sonrası böbrek fonksiyon bozukluklarında serbest oksijen radikalleri (SOR) en önemli rolü oynar (39). Cerrahide uygulanan kross

klempe bağı iskemi ve sonrasındaki reperfüzyon, hasar oluşmasında en önemli nedeni oluşturur (36). İnfrarenal aortik klempe renal vasküler dirençte büyük bir düşme ve renal kan akımında %30'luk bir düşüş ile ilişkilidir. Renal hemodinamik bozukluk klempe kaldırıldıktan sonrada devam eder (41). Aortik cerrahi geçiren hastalarda postoperatif 6 ay sonra renal plazma akımı ve glomerüler filtrasyon oranı anlamlı derecede düşük tesbit edilmiştir (42).

İskemiye uğramış böbrekte tedavinin tek yolu kan akımını artırmak yani reperfüzyondur. Ancak bu durumda da kaçınılmaz olarak reperfüzyon hasarı oluşmaktadır. Böyle bir durumda reperfüzyon hasarının önlenmesi veya azaltılmasında çare aramak zorunluluğu vardır. En uygun ve en etkin tedavi halen tartışma konusudur. Reperfüzyon komponentini azaltmak için çeşitli terapotik ve farmakolojik stratejiler üzerinde çalışmalar sürmektedir.

Hipoksiye bağı böbrek hasarının patogeneğinde serbest oksijen radikal ve antioksidan enzimlerin rolünün belirlenmesi, antioksidan tedavi denemelerini gündeme getirmiştir (96, 97). Oksidatif streste serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar arasındaki denge serbest radikaller lehine bozulur (98). Serbest oksijen radikallerinin etkisini önlemede tiklopidin, mannitol, allopürinol, askorbik asit, süperoksit dismutaz gibi bazı maddeler denenmiş ve deneysel olarak iskemi reperfüzyon hasarını önlemede etkili oldukları gösterilmiştir (99).

İskemi ile aktive olmuş nötrofiller reperfüzyonla dolaşıma katılırlar ve uzak organ hasarında etkin rol oynarlar. Bu nötrofil aracılı mekanizma iskemi ve renal reperfüzyonda hasarın oluşmasında en önemli yol olarak karşımıza çıkmaktadır. (100).

İskemi reperfüzyon hasarına bağı gelişen spinal kord (60), iskelet kası (105,106), kalp (107), akciğer (108) uzak organ hasarına iloprostun etkileri üzerine çalışmalar yapılmıştır. Aytaçoğlu ve Arkadaşlarının (71), N. Yakut ve Arkadaşlarının (72), Özcan ve Arkadaşlarının (73) yaptığı çalışmalarda iskemi reperfüzyon hasarına bağı gelişen böbrek uzak organ hasarında iloprostun hasarı azaltmada etkin olduğu gösterilmiştir. Bizde çalışmamızda iloprostun etkilerini araştırmayı hedefledik.

Çalışmamızda histopatolojik incelemede kontrol grubunda bulanık şişme, tubuler nekroz saptanmadı. Konjesyon ve iltihabi hücre infiltrasyonu minimal (+1) tesbit edildi. (Ödem hiçbir grupta saptanmadığı için istatistiki incelemeye alınmadı.)

İskemi reperfüzyon grubunda bulanık şişme multifokal yoğun (+3), tubuler nekroz orta (%25-75), konjesyon multifokal orta (+2), iltihabi hücre infiltrasyonu ise minimal (+1) olarak saptandı. Histopatolojik olarak kontrol ve iskemi reperfüzyon grubu arasında anlamlı farklılık mevcuttu.

Dört grup karşılaştırmasında Kruskal Wallis testinde bulanık şişme için $X^2=24,369$ ve $p=0,0001$ olarak hesaplanmıştır. $p<0,01$ olduğundan gruplar arası anlamlı fark olduğu görülmüştür. Tubuler nekroz için $X^2=24,949$ ve $p=0,0001$ olarak hesaplanmıştır. $p<0,01$ olduğundan tubuler nekroz içinde gruplar arası anlamlı fark olduğu tesbit edilmiştir. İltihabi hücre infiltrasyonu için $X^2=10,156$ $p=0,012$ ve $p>0,01$ olduğundan istatistiksel olarak gruplar arası anlamlı farklılık tesbit edilememiştir. Dört grup karşılaştırmasında konjesyon için $X^2=14,546$ ve $p=0,001$ olarak saptanmış ve $p<0,01$ olduğundan sonuç istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Nitrik oksitin böbreklerde iskemi reperfüzyona bağlı hasarda potansiyel koruyucu ajan olduğu kabul edilmektedir. Bu koruyucu etki muhtemelen anjiotensin, katekolaminler ve endotelin'in vazokonstrüktör etkilerine karşı kendisi vazodilatasyon yaparak sağladığı şeklinde açıklanabilmektedir (99). Ünal ve Arkadaşları sıçanlarda iskemi reperfüzyon hasarında eksojen verilen nitrik oksitin belirgin koruyucu özellik taşıdığını saptamışlardır (101). Chatterjee ve Arkadaşları iskemi reperfüzyon hasarında böbrek fonksiyon bozukluklarının iNOS aktivitesinin baskılanması ile azaltılabileceğini bildirmişlerdir. iNOS yokluğunda böbrek iskemi reperfüzyon hasarının düzeltilebileceği veya tamamen engellenebileceğini göstermişlerdir (102).

Bizim çalışmamızda iskemi reperfüzyon grubunda ışık mikroskop sonuçlarında tubuler nekroz hafif (%5-25) ve orta (%25-75) olarak saptanırken; iloprost verilen deneklerde tubuler nekroz minimal (%5'den az) tesbit edildi. Bulanık şişme iskemi reperfüzyon grubunda yoğun (+3), iloprost grubunda ise minimal (+1)ve orta (+2) olarak saptandı. Elde ettiğimiz sonuçlar bize iloprostun; nitrik oksitde olduğu gibi vazodilatasyon yapıcı etkisinin yanında antiagregan, antioksidan, sitoprotektif etkileri ile böbreklerdeki iskemik reperfüzyona bağlı hasarın önlenmesinde faydalı olabileceğini düşündürmektedir.

PgI₂ analogu olarak iloprost, endojen prekürsörünün farmakolojik özelliklerine sahiptir ve endojen prekürsöre göre daha stabildir (103). İloprost nötrofil adezyonunu azaltmaktadır. Nötrofillerden serbest radikallerin salgılanmasını engellemekte ve dolayısıyla da yeniden reperfüzyon sırasında nötrofillerin sebep olduğu endotelial hasarı azaltabilmektedir (104). Endojen PgI₂ ve nitrik oksit böbrek damar direncini azaltan ve glomerüler filtrasyonu artıran otakoidlerdir (50, 51). Sonuç olarak iloprost endojen prekürsörü gibi iskemi reperfüzyona bağlı böbrek hasarını azaltmaktadır. Bizim çalışmamız sonucunda da tubuler nekroz ve bulanık şişmeyi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaltmıştır.

İloprost grubunun Mann Whitney U testi ile iskemi reperfüzyon grubu arasında yapılan karşılaştırmasında bulanık şişme $p < 0,05$ saptanırken istatistiki olarak anlamlı kabul edildi. Tubuler nekroz için $p < 0,05$ saptandı istatistiksel olarak sonuç anlamlı olarak saptandı. İltihabi hücre infiltrasyonu ve konjesyon için $p > 0,05$ olduğundan istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi.

İloprost endojen prekürsörü (PgI₂) gibi güçlü sitoprotektif, antiagregan, vazodilatatör etkiye sahiptir. Trombosit agregasyonunu inhibe ederek, adezyon molekül üretimini azaltarak lökosit-endotel ilişkisini bozmaktadır. Sonuçta mikrosirkülasyonu artırarak mikrovasküler disfonksiyon ortadan kalkmaktadır. Tüm bunlara ilave olarak doku perfüzyonu artışı ve endotel koruyucu etki meydana getirerek iskemi reperfüzyon sonrası böbrek hasarını azaltmada etkili olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızın sonuçlarında bu verilerle paralellik göstermektedir.

Levosimendan akut ve kronik kalp yetmezliğinde kullanılan, myokardın kalsiyum duyarlılığını artıran ve vazodilatatör etkiye sahip inotropik ajandır. Levosimendan hücre içi kalsiyum ve cAMP düzeylerini artırmaksızın troponin C'ye bağlanarak kontraktıl proteinlerin kalsiyum duyarlılığını artırarak kardiyak performansı olumlu yönde etkiler. Kalsiyum konsantrasyonunu artırmadığı için myokarda nekroz oluşma riskini azaltır. Dolayısıyla cAMP bağımlı ajanların olumsuz etkilerini taşımamaktadır (75, 76).

Levosimendan damar duvarındaki ATP bağımlı potasyum (K⁺) kanallarını açarak sistemik vasküler yatakta vazodilatasyona neden olur (79). Arteriel yapılar üzerinde in vivo ve in vitro vazodilatasyon oluşturduğu çeşitli çalışmalarla saptanmıştır (82, 83, 84, 85, 86). Levosimendanın relaksasyon etkisinin endoteli

sağlam arterlerde daha az olduğu tesbit edilmiştir (85). İlacın aktif metaboliti olan OR-1896'nında vazodilatatör etkinlikte olduğu gösterilmiştir (89). Bu etki ilacın iskemiye karşı koruyucu etkileri olmasını da sağlamaktadır (80). Oksijen tüketimi üzerine olumlu etkilerinin bulunması ve iskemi reperfüzyon sonrası enerji dengesi üzerinde nötral etkisinin olması bileşiğin antiiskemik etkisine katkıda bulunmaktadır (78).

Levosimendanın dekompanze kalp yetmezlikli hastalarda proinflamatuvar sitokinlerin serum seviyelerini azalttığı ve apoptozise gidişi baskıladığı gösterilmiştir. İlaç kardiyak debiyi dolayısıyla renal perfüzyonu artırarak proinflamatuvar sitokinlerin serum düzeylerinin düşmesine yol açar. Ayrıca periferel doku perfüzyonunu artırarak kalp dışı sitokin üretimini azaltır (109).

Kertsen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada köpeklerde sol inen arterin deneysel olarak tıkanmasına bağlı oluşan infarkt alanının levosimendan verilmesi ile sınırlandığı gözlemlenmiştir (110). Yapılan bir çalışmada levosimendanın portal kan akımını iyileştirdiği tesbit edilmiştir (111). Levosimendanın K^+ ATP kanal açıcı etkisi ilacın iskemiye karşı koruyucu etkilerinin olmasını sağlar ve kardiyoprotektif etkiyi ortaya çıkarır (112). Katırcıoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada levosimendanın iskemi reperfüzyona bağlı spinal kord hasarına karşı etkili olduğu ortaya konmuştur (113).

Levosimendanın ilgi çekici farmakolojik profili nedeniyle mevcut endikasyonu dışında kullanımı ile ilgili çalışmalar her geçen gün artmaktadır. İnfrarenal aortik klemp uygulaması esnasında renal kan akımında düşme ve renal vasküler dirençte azalma izlenmektedir. Levosimendan kardiyak debiyi dolayısıyla renal kan akımını artıracığından, ayrıca iskemi esnasında nötr enerji dengesi olduğu için ve doku protektif etkisi saptandığından bizde çalışmamızda böbrek iskemi reperfüzyon hasarına levosimendanın etkilerini de araştırmak istedik. Aynı zamanda pek çok organa yönelik iskemi reperfüzyon çalışmaları olan iloprost ile levosimendanın etkilerini karşılaştırmayı amaçladık.

Çalışmamızın sonunda ışık mikroskop verilerinde levosimendan grubunda tubuler nekroz minimal (%5'den az) olarak tesbit edilirken, iskemi reperfüzyon grubu değerlerine göre histopatolojik olarak anlamlı sonuç saptandı. Bulanık şişme

multifokal orta (+2) ve fokal minimal (+1) olarak gözlemlendi. İskemi reperfüzyon grubuna göre iltihabi hücre infiltrasyonu belirgin olarak farklı olarak tesbit edildi.

Levosimendan için yapılan istatistiksel analizde Mann Whitney U testi kullanıldı. İskemi reperfüzyon grubu ile yapılan karşılaştırmada bulanık şişme, tubuler nekroz ve iltihabi hücre infiltrasyonu için $p < 0,05$ olduğundan anlamlı fark kabul edildi. Konjesyon için istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edilmedi ($p > 0,05$).

Levosimendan hücre içi kalsiyum miktarını artırmadan etki göstermektedir. İskemi sonrası nekrozun en temel işareti olan kalsiyum artışını engellemektedir. K^+ ATP kanallarını açarak sistemik vasküler yatakta vazodilatasyon oluşturması mikrosirkülasyonu korumakta ve antiiskemik oluşturmaktadır. İskemi reperfüzyon sonrası enerji dengesi üzerine nötr etkisi bulunmaktadır. Aktif metaboliti olan OR-1896'nında aynı etkilere sahip olması ilacın etkinliğini ve etki süresini artırmaktadır. Kendisinin ve aktif metabolitinin renal yetmezlikten etkilenmemesi pozitif bir özelliğidir. Tüm bu etkiler sonucunda levosimendanın iskemi reperfüzyon sonrası böbrek end organ hasarında etkili olduğunu söyleyebiliriz.

Levosimendan ve iloprost grupları arasında yapılan değerlendirmede Mann Whitney U testi kullanıldı. İki grup arasında iltihabi hücre infiltrasyonunu azaltma açısından levosimendan lehine $p < 0,05$ değeri tesbit edilirken sonuç istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Bulanık şişme, tubuler nekroz, konjesyon açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0,05$). Levosimendanın bu üstünlüğünün kardiyak debiyi dolayısıyla renal perfüzyonu artırarak proinflamatuvar sitokinlerin serum düzeylerinin düşmesine yol açarak ve periferal doku perfüzyonunu artırarak kalp dışı sitokin üretimini azaltmasına bağlı olabileceğini düşündük.

Ancak preparatların histopatolojik sınıflandırması göz önüne alındığında, iloprost ve levosimendan gruplarının karşılaştırılmasında sonuçların levosimendanın iskemi reperfüzyona bağlı böbrek hasarını azaltmada her ne kadar istatistiksel fark tesbit edilmese de daha etkin olduğunu söylemek mümkündür. Bu fark özellikle iltihabi hücre infiltrasyonunu azaltmada daha belirgin ortaya çıkmaktadır.

Sonuç olarak iloprost ve levosimendan iskemi reperfüzyona bağlı gelişen böbrek hasarını önemli ölçüde azaltmaktadır. Ancak bizim çalışmamızın sonuçlarına göre levosimendanın iloprosta göre daha iyi bir koruma sağladığını söylemek mümkündür.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak çalışmamızda; ışık mikroskopisi verilerine göre, histopatolojik olarak iloprost ve levosimendan istatistiksel anlamlı şekilde iskemi reperfüzyona bağlı tubuler nekrozu azalttığı kanıtlanmış oldu. Preparatların ışık mikroskopik incelenmesinde iskemi reperfüzyon grubunda glomerülde yoğun konjesyon, tubulus epitelinde yoğun bulanık şişme ve tubuler nekroz izlenirken, iloprost ve levosimendan gruplarında gözlenen hasar daha azdı. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında levosimendanın iloprostta göre daha fazla koruma sağladığını söylemek mümkündür.

Doğal olarak özellikle alt ekstremitelerde iskemi reperfüzyon hasarının oluşumunun azalması, lokal ve uzak etkilerinin minimale indirilmesi için en önemli olan erken tanı ve mümkün olduğunca erken revaskülarizasyon sağlanmasıdır.

Çalışmamızda alt ekstremitelerde oluşturulan iskemi ve sonrasında uygulanan reperfüzyonun böbrekte hasarlanma yaptığını glomerül ve tubulus epitelinde ışık mikroskopisi verileri ile tesbit ettik. Deneysel çalışmamızın sonuçları iloprost ve levosimendanın iskemi reperfüzyon sonrası böbrekte oluşan hasarı azalttığını göstermektedir. Bu düşünceyi destekleyen bulgular glomerülde ve tubulus epitelinde gözlenen iskemi reperfüzyon grubuna göre anlamlı derecede düşük tesbit edilen hasarlanmadır. Akut alt ekstremitelerde iskemi reperfüzyon sonrası gelişen lokal ve sistemik etkilerin tedavisinde iloprost ve levosimendanın yararlı olabileceği kanaatindeyiz. Özellikle planlı abdominal aort cerrahi işlemlerinde iskemi reperfüzyonun lokal ve uzak etkilerinin azaltılmasında iloprost ve levosimendan kullanılması faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Haimovici H: Metabolic complications of acute arterial occlusions and skeletal muscle ischemia: myonephropatic metabolic syndrome: in: Haimovici's Vascular Surgery. Principal and Techniques (eds: Haimovici H), 4th.ed. Blackwell Science, Cambridge 1996;509-30
2. Nuh Zafer Cantürk, İskender Sayek. Cerrahi Araştırma Kitabı. 2005 Nobel Tıp Kitabevleri
3. Robbins and Kumar, Basic Pahology Kısım 1.1 Hücre Zedelenmesi ve Adaptasyon. 1990, 4. Baskı, Güneş Kitabevi.
4. Siemionow M , Arslan E. İschemia/reperfusion injury: a rewiew in relation to free tissue transfers. Microsurgery. 2004; 24(6): 468-75. Rewiew
5. Semenza GL. Perspective on oxygen sensing. Cell. 1999;Aug 6; 98(3):281-4
6. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischemia and reperfusion injury. Br Med Bull. 2004; Oct 19;70:71-86 Print 2004. Rewiew. Erratum in: BrMed Bull. 2005; 73-74:139
7. Zhao ZQ, Vinten-Johansen. Postconditioning: Reduction of reperfusion-induced injury. J Cardiovasc Res2006;70:20011.
8. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Robbins pathologic basis of disease. 4th Ed. Philadelphia. W.B. Saunders company 1995;3-12
9. Heinzelman M, Mercer- Jones MA, Passmore JC. Neutrophils and renal failure. AM J. Kidney Dis 1999;34(2):384-99
10. Xu Y, Huo Y, Toufektsian MC, Ramos SI, Ma Y, Tejani AD, French BA, Yang Z. Activeted platelets contribute importantly to myocardial reperfusion injury. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2006;290(2):H 92-9
11. Rubin BB, Romaschin Ad, Walker PM et al. Mechanisms of postischemic injury inskeletal muscle: intervention strategies. J. Apl Physiol 1996;80:369-387

12. Homer-Vanniasikam S, Crinnion JN, Gough MJ: Post-ischæmic organ dysfunction: a review. *E J Vasc Endovasc Surg*, 1997;14:195-203
13. Kılıç ,Kılınç: Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi* 20025;33(2):110-118
14. Prof.Dr.Enver Duran: Kalp Damar Cerrahisi, 1.Cilt. 8. bölüm Kalp ve damar hastalıklarında iskemi-reperfüzyon hasarı, Çapa Tıp Kitapevi, 1.Baskı, 2004
15. Dormandy TL. An approach to free radicals. *Lancet* 1983;2:1010-1014
16. Kingston R, Kelly CJ, Murray P. The therapeutic role of taurine in ischemia-reperfusion injury. *Curr. Pharm. Des.* 2004;10(19):2401-101
17. Piper MH, Meuter K, Schafer C. Cellular mechanism of ischemia reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 2003;75:S644-648
18. Allen DG, Xiao XH. Role of the cardiac Na/H exchanger during ischemia and reperfusion. *Cardiovasc Res* 2003;57:934-941
19. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 1994;76:301-314
20. Granger DN, Kubes P. The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. *J Leukocyte Biol.* 1994;55:662
21. Gute Dc, Ishiada T, Yarimizu K et al. Inflammatory responses to ischemia and reperfusion in skeletal muscle. *Mol Cell Biochem* 1998;179:169-187
22. Rubin BB, Smith A, Liauw S et al. Complement activation and white cell sequestration in postischemic skeletal muscle. *Am J. Physiol* 1990;259:H525-531
23. Sengelov H, Kjeldsen L, Diamond MS et al. Subcellular localization and dynamics of Mac-1(alpha m Beta 2) in human neutrophils. *J Clin Invest* 1993;92:1467-1476
24. Kishimoto T K. A dynamic model for neutrophil localization to inflammatory sites. *J Natl Inst. Health Res* 1991;3:75-77
25. Smith CW. Molecular determinants of neutrophil activation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990;2:487-499

26. Serizawa A, Nakamura S, Suzuki, et al. Involvement of platelet activating for in cytokine producion and neutrophil activation after hepatic ischemia reperfusion. *Hepatology* 1996;23:1656-1663
27. Reffelmann T, Hale SL, Dow JS, Kloner RA. No-reflow phenomenon persists long-term after ischemia/reperfusion in the rat and predicts infarct expansion. *Circulation*, 2003;108,2911-2917
28. Kuijper PH, Gallardo Torres HI, Van der Linden JA et al. Platelet- dependent primary hemostasis promotes selectinand integrin-mediated neutrophil adhesion to damaged endothelium under flow conditions. *Blood* 1996; 87: 3271-3281
29. Anaya Prado R, Toledo Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA. Ischemia Reperfusion injury. *J Surg Res*. 2002;15;105(2):248-58
30. Allan M. Lefer, David J. Lefer. The role of nitric axide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischemia reperfusion. *Cardiovasc. Res*. 1996;(32):743-751
31. Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory cytotoxic and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radicals Biol.Med*. 1998;25:434
32. Blaisdell FW: The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a reiew. *Cardiovasc Surg* 2002;10:620-630
33. Hayes G, Liauw S, Romaschin AD, Walker PM. Seperation of reperfusion injury from ischemia-induced necrosis. *Surg Forum*, 1988;39:306-308
34. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol*, 2000;190:255-266
35. Bonventre JV. Mechanism of ischemic akut renal failure. *Kidney Int*.1993;43:1160-1178
36. Gelman S. The pathophysiology of aortic cross clamping and unclamping. *Anesthesiology* 1995;82:1026-1060

37. Tassiopoulos AK, Carlin RE, Pedoto A, et al. Role of nitric oxide and tumor necrosis factor on lung injury caused by ischemia-reperfusion of the lower extremities. *J Vasc Surg* 1997;26:647-65
38. Conesa LE, Valero F, Nadal JC et al. N-Acetyl-L-Cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. *Am J Physiol* 2001;281:R730-R737
39. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in rat. *J Clin Invest* 1984;74:1156-1164
40. Abbott W M, AustenWG. The reversal of renal cortical ischemia during aortic occlusion by mannitol. *J Surg Res* 1974;16:482-489
41. Gamulin Z, Forster A, Morel D, Simonet F, Aymom E, Favre H. Effects of infrarenal aortic cross clamping on renal hemodynamics in humans. *Anesthesiology* 1984;61:394-399
42. Awad RW, Barham WJ, Taylor DN, Woodward DA, Bullen BR. The effect of infrarenal aortic reconstruction on glomerular filtration rate and effective renal plasma flow. *Eur j Vasc Surg* 1992;6:362-367
43. Friedewald JJ, Rabb H. Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *kidney Int.* 2004;66:486-491
44. Brady HR, Singer GG. Acute renal failure. *Lancet* 1995;346:1533-1540
45. Moore KL. The abdomen Clinically Oriented Anatomy. Üçüncü baskı. Sattelfield TS (ed) Williams&Wilkins Baltimore 1992; Sayfa 127-242
46. Tisher CC. Structure and function of kidneys: Cecil Textbook of Medicine. Yirmibirinci baskı. Goldman L, Bennet JC(ed) WB Saunders Company Philadelphia, Pennsylvania 2000; Sayfa 532-539
47. Prof.Dr.Veli Odar. Anatomi Ders Kitabı 2.Cilt Hacettepe Taş Kitapçılık 1986; Sayfa 235-255
48. Guyton Ac, Hall JE. Urine formation by the kidneys: I.Glomerular filtration, renal blood flow and their control: textbook of Medical Physiology. Dokuzuncu baskı. WB Saunders Company Philadelphia, Pennsylvania 1996; Sayfa 315-330

49. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Urinary System Basic Histology. Yedinci baskı. Appleton&Lange, Lebanon 1992; Sayfa 371-393
50. Lance DD, Brenner BM. The renal circulation in: The Kidney. WB Saunders Company, Philadelphia 1996; Sayfa 247-286
51. Navar LG, Carmine PK, Mitchell KD. Renal circulation in: Text book of nephrology. Williams&Wilkins Baltimore 1995; Sayfa 41-54
52. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and prevention of ischemia reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133-1138
53. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74(5):1124-36
54. Cutin JC, Perrelli MG, Cavalieri B, Peralta C, Rosell Catafau J, Poli G. Microvascular dysfunction induced by reperfusion injury and protective effect of ischemic preconditioning. *Free Radic Biol Med*. 2002;33:1200-1208
55. Jerome SN, Akimitsu T, Gute Dc, Korthuis RJ. Ischemic preconditioning attenuates capillary no-reflow induced by prolonged ischemia and reperfusion. *Am J Physiol* 1995;268:H2063-7
56. Collard CD, Lekowski R, Jordan JE, Agah A, Stahl GL. Complement activation following oxidative stress. *Mol Immunol* 1999;36:941-948
57. Fitch JC, Rollins S, Matis L, Alford B, Aranki S, Collard Cd, Dewar M, Eleftheriadis J, Hines R, Kopf G, Kraker P, Li L, O'Hara R, Rinder C, Rinder H, Shaw R, Smith B, Stahl G, Sherman SK. Pharmacology and biological efficacy of a recombinant, humanized, single chain antibody C5 complement inhibitor in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1999;100:2499-506
58. Panes J, Perry M, Granger DN. Leukocyte endothelial cell adhesion: Avenue for therapeutic intervention. *Br j Pharmacol* 1999;126:537-50
59. Katırcıoğlu S.F, Küçükaksu D.S, Bozdayı M, Saydam G, Zorlutuna I.Y, Taşdemir O and Beyazıt K. Effects of prostacyclin on heparin reversal with protamin. *Vasc Surg* 1992;8:464-472

60. Katircioğlu S.F, Gökçe P, Özgencil E, Sarıtaş Z, Şener E, Yılmazkaya B, Koç B, Taşdemir O, Beyazıt K. Prostacyclin usage for spinal cord during experimental thoracic aortic cross-clamping. *Vasc Surg* 1996;30:97-101
61. Grylewski RJ. The impact of prostacyclin studies on the development of its stable analogues in: prostacyclin and its stable analogue iloprost. Berlin Heidelberg, Springer-Verlas 1987:3-16
62. Karabay Ö, Silistreli E, Erdal C, Önoł H, AlginĀ, Güzelođlu M İ, Kılıcı G, Açıkel Ü. Ciddi periferik arter hastalığında intravenöz iloprost tedavisi sonuçları. *Turkish j Vasc Surg* 2005;14:21-26
63. Moncada S, Grylewski B, Buntlng S, Vine IB. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 1976;263:663-5
64. Moncada S, Vane JR. Unstable metabolities of arachidonic acid and their role in haemostasis and trombosis. *Br Med Bull* 1978;34:129-135
65. Rademaker M, Cooke ED, Almond Ne, et al. Comparison of intravenous infusion of iloprost and oral nifedipine in treatment of Raynoud's phenomenon in patient with systemic sclerosis: atherosclerosis double blind randomized study. *Br Med J* 1989;298:561-564
66. İlomedin 20 1ml Bayer-Schering Pharma prospektüs
67. Dormandy JA. The pathophysiology of critical limb ischemia and pharmacological intervention with a stable prostacyclin analogue, iloprost. Royal Society Of Medicine Services, London 1989
68. Lowel R, Gloviczki P, Miller V. İn vitro evaluation of endothelial and smooth muscle function of primary varicose veins. *J Vasc Surg* 1992;16:679-686
69. Rosenzweig EB, Kerstein D, Barst RJ. Long-Term prostacyclin for pulmonary hypertension with associated congenital heart defects. *Circulation* 1999;99:1858-1865
70. Olschewski H, Ghofrani H. A, Schmelt T, Winkler J, Wilkens H, Höper M.M, Behr J, Kleber Xf, Seeger W.İ nhaled iloprost to treat severe pulmonary hypertension. *Ann intern Med* 2000;132:435-443

71. Aytacoglu BN, Sucu N, Tamer L, Polat A, Gul A, Degirmenci U, Mavioglu I, Dikmengil M. İloprost fort he attenuation of ischemia-reperfusion injury in a distant organ. *Cell Biochem Funct.* 2006;24(4):341-6
72. N.Yakut et al. The influence of levosimendan and iloprost on renal ischemia reperfusion: an experimental study. *İnteractive Cardiovascular and Thoracic Surgery* 7(2008):235-239
73. V.Ozcan et al. The effect of iloprost and vitamin C on kidney as a remote organ after ischemia reperfusion of lower extremities. *Journal of Surgical Research* 2007;140:20-26
74. Moiseyev VS, Poder P, Andrejev N, Ruda MY, Golikov AP, Lazebnik LB, Kobalova ZD, Lehteren LA, Laive T, Nieminen MS, Lİe KI. Safety and efficacy of a novel calcium sensitizer, levosimendan, in patients with left ventricular failure due to an acute myocardial infarction. A randomized,placebo-controlled,double-blind study(RUSSLAN) *Eur Heart J* 2002;23:1422-32
75. AbrahamWT, Adams KF, Fonarow GC, Costanzo MR, Berkowitz RL, LeJemtel TH, Ching ML, Wynne J. In hospital mortality in patients with acute decompansated heart failure requining intravenous vasoactive medications: an analysis from the Acute Decompansated Heart Failure National Registry (ADHERE) *J Am Coll Cardiol* 2005;46:57-64
76. Kivikko M, Lehtonen L, Colucci WS. Sustained hemodynamic effect of intravenous levosimendan. *Circulation* 2003;107:81-6
77. De Luca L, Colucci WS, Nieminen MS, Massie BM, Gheoghiade M. Evidence-based use of levosimendan in different clinical settings. *Eur Heart J* 2006;27(16):1908-1920
78. Figgitt DP, Gillies PS, Goa KL. Levosimendan *Drugs* 2001;61:613-27
79. Michaels AD, Mc Keowin B, Kotsal M, Vakharia KT, Jordan Mv, Gerher IL, Faster E, Chatterjee K. Effects of intravenous levosimendan on human coronary vasomotor reulation, left ventricular wall stres and myocardial oxygen uptake. *Circulation* 2005;111:1504-9

80. Du Toit, E.F.Muller, C.A McCarthy, J et al. Levosimendan: effects of acalcium sensitizer on fonction and arrhythmias and cyclic nucleotide levels during ischemia-reperfusion in the Langendorff perfused guinea pig heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;290:505-514
81. Kwon SH, Pimental DR, Rempndio A, Sawyer DB, Colucci WS. H₂O₂ regulates cardiac myocyte phenotype via concentration-dependent activation of distinct kinase pathways. *J Mol Cell Cardiol* 2003;35:615-21
82. Montes FR, Echeverri D, Burtiago L et al. The vasodilatory effect of levosimendan on the human internal mammary artery *Anesth Analg* 2006;103:1094-1098
83. Yildiz O,Seyrek M,Yildirim V et al.Potassium channel related relaxation by levosimendan in the human internal mammary artery *Ann Thorac Surg* 2006;81:1715-1719
84. Usta C,Eksert B, Golhari I et al.The role of potassium channels in the vasodilatory effect of levosimendan in human internal thoracic arteries *Eur J Cardiothorac Surg* 2006;30:329-332
85. Bowman P,Haikala H and Paul R.Levosimendan a calcium sensitizer in cardiac muscle, induces relaxation in coronary smooth muscle through calcium desensitization. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;288:316-325
86. Ozdem S.S,Yalcin O,Meiselman HJ et al.The role of potassium channels in relaxant effect of levosimendan in rat small mesenteric arteries.*Cardiovasc Drugs Ther* 2006;20:123-127
87. Yildiz O. Vasodilating mechanism of levosimendan: Involvement of K Channels. *J Pharmacol Sci* 2007;104:1-5
88. Yokoshiki H and Sperelakis N.Vasodilating mechanism of levosimendan. *Cardiovasc Drugs Ther* 2003;17:111-113
89. Erdei N, Papp Z, Pollesello P, Edes I, Bagi Z. The levosimendan metabolite OR-1896 elicits vasodilation by activating the Katp and BKca channels in rat isolated arterioles. *Br J Pharm* 2006;148:696-702
90. Simdax 2,5mg/ml 5ml Abbott prospektüs.

91. Slawsky MT, Colucci WS, Gottlieb SS, Greenberg BH, Haeusslein E, Hare J et al. Acute hemodynamic and clinical effect of levosimendan in patients with severe heart failure. *study investigators. Circulation* 2000;102(18):2222-7
92. Ajay Kher et al. Aprotinin improves kidney function and decreases tubular cell apoptosis and proapoptotic signaling after renal ischemia-reperfusion. *The journal of Thoracic and Cardiovascular surgery.* 2005;130:662
93. Teruya et al. The effects of pentoxifylline into the kidneys of rats in a model of unilateral hindlimb ischemia-reperfusion injury. *Acta Cirurgica Brasileira* 2008;23(1):29
94. Nurettin Aydoğdu, Kadir Kaymak, Ömer Yalçın. Sıçanlarda böbrek iskemisi/reperfüzyon hasarında N-asetil sisteinin etkileri. *Fırat Tıp Dergisi* 2005;10(4): 151-155
95. İlker Kiriş ve Arkadaşları. Deneysel aortik iskemisi-reperfüzyon modelinde renal hasara Gadolinium klorürün etkisi. *Turkish J. Vasc Surg* 2005;14(2):13-18
96. Sahna E, Parlakpınar H, Cihan OF, Turkoz Y, Acet A. Effects of aminoguanidine against renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Cell Biochem Funct* 2004;22
97. Sahna E, Parlakpınar H, Oztürk F, Cigremis Y, Acet A. The protective effects of physiological and pharmacological concentrations of melatonin on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Urol Res* 2003;31(33): 188-193
98. Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2005;3: 30-39
99. Enkaya I, Ökten B, Saba D, Güven H, Dirican M, Serdar Z, Tolunay Ş, Özer Z. İskelet kası iskemisi reperfüzyon hasarının azaltılmasında tiklopidin. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi* 1999;7:405-410
100. C Baylis, J Bloch. Nitric Oxide (NO) in renal physiology and pathophysiology. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11(10):1955-7
101. Unal D, Yeni E, Erel O, Bitiren M, Vural H. Antioxidative effects of exogenous nitric oxide versus antioxidant vitamins on renal ischemia reperfusion injury. *Urol Res* 2002;30:190-4

102. Chatterjee et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces renal ischemia reperfusion injury. *Kidney International* 2002;61:862-871
103. Schillinger E, Kraus T, Stock G. Iloprost in: Scriabine A (ed). *New drugs annual: cardiovascular drugs*. Raven Press. New York 1987;209-31
104. Farber NE, Pieper GM, Thomas JP, Gross GT. Beneficial effects of iloprost in the stunned canine myocardium. *Circulation* 1988;62:204-15
105. Emreçan B, Tulukoğlu E, Bozok S, Aksun M, Yağdı S, Özcan A.V, Saçar M, Gürbüz A. Iloprost and pentoxifylline attenuate ischemia reperfusion injury in skeletal muscle in rabbit model. *Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery* 2008;14(3):182-187
106. Mustafa Saçar, Vefa Özcan, Hülya Aybek, Gökhan Önem, Süleyman Demir, İbrahim Gökşin, Derviş Verdi, Ahmet Baltalarlı. Vitamin C and iloprost attenuate skeletal muscle injury caused ischemia reperfusion of the lower extremities. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;13(4):374-378
107. Roberto Ferrari, Anna Cargnori, Salvatore Curello, Giovanni M. Boffa & Claudio Ceconi. Effects of iloprost (ZK 36374) on glutathione status during ischemia reperfusion of rabbit isolated hearts. *Br.J.Pharmacol.* 1989;98:678-684
108. Koksel C, Ozdulger A, Aytacoğlu B, Tamer L, Polat A, Sucu N, Yıldırım C, Degirmenci U, Kanik A. The influence of iloprost on acute lung injury induced by hindlimb ischemia reperfusion in rats. *Pulm Pharmacol Ther.* 2005;18(4):235-41
109. Adamopoulos S, Parissi JT, İliodromitis EK, et al. Effect of levosimendan versus dobutamine on inflammatory and apoptotic pathways in acutely decompensated chronic heart failure. *Am J Cardiol* 2006;98(1):102-6
110. Judy R. Kertsen, Matthew W. Montgomery, Paul S. Pagel, David C. Warltier. Levosimendan, a new positive inotropic drug, decreases myocardial infarct size via activation of K_{ATP} channels. *Anesth Analg* 2000;90:5-11
111. Oldmer A, Konrad D, Weitzberg E, et al. Effect of levosimendan, a novel inotropic calcium sensitizing drug, in experimental septic shock. *Crit Care Med* 2001;29:2185-93

112. L.Tritapepe, V. De Santis, D. Vitale, M. Santulli, A. Morelli, I. Nofroni, P.E. Puddu, M. Singer, P.Pietropaoli. Preconditioning effect of levosimendan in coronary artery bypass grafting –a pilot study. *British Journal of Anaesthesia* 2006;96(6):694-700
113. S.Fehmi Katircioglu, Mustafa Seren, Ihsan Parlar, Nilufer N. Turan, Yasemin Manavbasi, Gulden Aydog, Ferit Cicekcioglu, Ufuk Tutun, A.Tulga Ulus. Levosimendan effect on spinal cord ischemia reperfusion injury following aort clamping. *J Card Surg.* 2008;23:44-48

