



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

**RATLARDA RENAL İSKEMİ-REPERFÜZYON
HASARINDA SİTRATIN ÖNKOŞULLAYICI
ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK YÖNTEMLER VE
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Abdullah KAYGISIZ
UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL
2021

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

**RATLARDA RENAL İSKEMİ-REPERFÜZYON
HASARINDA SİTRATIN ÖNKOŞULLAYICI
ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK YÖNTEMLER VE
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Abdullah KAYGISIZ
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Ferda YILMAZ İNAL

İSTANBUL
2021

ONAY

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalında Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliği hükümlerine göre uzmanlık eğitimi gören Dr. Abdullah KAYGISIZ' ın hazırladığı ve jüri önünde savunduğu “RATLARDA RENAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA SİTRATIN ÖNKOŞULLAYICI ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK YÖNTEMLER VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ” başlıklı tez başarılı kabul edilmiştir.

UNVAN, AD VE SOYAD

KURUMU

JÜRİ ÜYELERİ

İMZA

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Ferda YILMAZ İNAL

.....

Üyeler:

Prof. Dr. Hasan KOÇOĞLU

.....

Doç. Dr. Yunus Oktay ATALAY

.....

Başas. Uzm. Dr. Measure Gül Nihan ÖZDEN

.....

Tez Savunma Tarihi: 08/07/2021

Yazar Bildirimi

“RATLARDA RENAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA SİTRATIN ÖNKOŞULLAYICI ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK YÖNTEMLER VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ” isimli uzmanlık tezinde Dr. Abdullah KAYGISIZ

- Bu tezin kabulünden önce nerede ve ne kadarının yayınlandığını "Bilgilendirme" bölümünde belirtmiştir.
- Tezin hazırlanmasında katkısı olanları "Bilgilendirme" bölümünde eksiksiz olarak belirtmiştir.
- Bu tez ile ilgili çıkar çatışması olup olmadığını "Bilgilendirme" bölümünde belirtmiştir.
- Tez içerisinde başkalarının yayınlanmış veya yayınlanmamış çalışmalarından yapılan alıntılar için gerekli kaynakları açıkça belirtmiştir.
- Tez içerisinde başka kaynaklardan kopyalanmış olan kısımları tırnak içerisinde alarak ve izin alınan kaynağı belirterek kullanmıştır.

Temmuz, 2021

İmza:

- Bu tez daha önce herhangi bir yerde yayımlanmamıştır.
- Bu tezin hazırlanmasında tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ferda YILMAZ İNAL katkıda bulunmuştur.
- Bu çalışmada adı geçen ilaç, tıbbi cihaz ve laboratuvar malzemelerinin üreticileri ile herhangi bir çıkar ilişkim yoktur.
- Bu çalışmaya ait herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Dr. Abdullah KAYGISIZ



Meslek hayatımın en önemli basamaklarından biri olan uzmanlık eğitimim süresince hekimliğin hayatımızın her anına özveriyle yaymamız gerektiğini kendisinden öğrendiğim başta hocam sayın Prof. Dr. Hasan KOÇOĞLU'na,

Her zaman bize yol gösteren ve birlikte çalışma fırsatımız olduğu için kendimi şanslı hissettiğim saygıdeğer hocam Prof. Dr. Melek GÜRA ÇELİK'e,

Uzmanlık eğitimiyle geçen bu zorlu süreçte her konuda tecrübelerinden yararlandığımız ve sabırla mesleğin inceliklerini bize öğreten hocam Prof. Dr. Senem KORUK'a,

Tezimin hazırlık sürecinden basımına kadar, yoğun çalışma temposuna rağmen bana her konuda özveriyle yardım ettiği ve bu mesleğin nasıl özveriyle yapılabildiğinin bir kanıtı olduğu için sayın tez danışmanı hocam Dr. Öğr. Üyesi Ferda YILMAZ İNAL'a,

Birlikte çalışmaktan mutluluk ve onur duyduğum, benimle çok değerli bilgi ve tecrübelerini paylaşan tüm uzman abla ve abilerime,

Yoğun nöbetler ve çalışma temposuyla geçen bu asistanlık sürecinde birçok zorlu ve değerli anı biriktirdiğim tüm sevgili asistan arkadaşlarıma ve çalışma ortamını güzelleştiren tekniker, hemşire ile personel arkadaşlarıma,

Doktor olmamda, bu mesleği seçmemde karşılıksız özveriyle yanımda olan, her zaman fikirlerime saygı duyan annem, babam ve kardeşime,

Hayatımın her anını değerli kılan, sabrını ve sevgisini hep yanımda hissettiğim sevgili hayat arkadaşım Dr. Tuğçe Şule KAYGISIZ'a

Sevgi, saygı, minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Abdullah KAYGISIZ

Özet

RATLARDA RENAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA SİTRATIN ÖNKOŞULLAYICI ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK YÖNTEMLER VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Amaç: Sitratin sıçanlarda böbrek iskemi-reperfüzyon hasarı üzerindeki önkoşullayıcı etkisini total oksidan/antioksidan seviyeleri, tiyol/disülfid dengesi, paraoksonaz-1 enzim seviyesi, iskemi modifiye albümin düzeyleri gibi biyokimyasal yöntemler ve histopatolojik yöntemlerle değerlendirmeyi amaçladık.

Metot: Çalışmamızda ağırlıkları 285-370 g arasında değişen toplam 24 adet erişkin Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Tüm sıçanlara genel anestezi uygulandıktan sonra trakeostomi açılıp invazif mekanik ventilasyon uygulandı. Tüm gruplarda çalışma süresince arteriyel basınç değerleri ve kalp atım hızı sayısı femoral artere yerleştirilen kateter ile ölçülerek kaydedildi. Sıçanlar kapalı zarf usulü ile 4 gruba ayrıldı. Sham operasyon grubuna (Grup S) laparotomi uygulandıktan sonra kan örneği alınıp böbrekleri çıkartıldı. İskemi-reperfüzyon grubunun (Grup İR) bilateral renal pediküllerinden klemplenerek böbrekleri 40 dk. boyunca iskemiye maruz bırakıldı. Daha sonra klempler kaldırılarak 60 dk. reperfüze edildi. Sitrata grubuna (Grup C) bir kuyruk veninden 90 dk. süresince %4'lük sodyum sitrat solüsyonundan 1 mmol/kg/saat dozunda, diğer kuyruk veninden ise %10'luk kalsiyum glukonat solüsyonundan 2 ml/kg/saat dozunda uygulandı. İskemi-reperfüzyon + sitrata grubuna (Grup İR+C) kuyruk venlerinden 60 dk. boyunca %4'lük sodyum sitrat 1 mmol/kg/saat dozunda ve %10'luk kalsiyum glukonat 2 ml/kg/saat dozunda infüzyon şeklinde uygulandı. İnfüzyonların durdurulmasının ardından böbrekler 40 dk. boyunca klemplendi. İskemi sonrası klempler kaldırıldı ve böbrekler 60 dk. reperfüze edildi. Reperfüzyonun ilk 30 dakikasinda sodyum sitrat ve kalsiyum infüzyonları aynı dozlarda tekrar uygulandı. Çalışma sonunda tüm gruplarda çıkartılan böbrekler %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda fikse edildi. Böbrek spesmenleri hematoksilin-eosin ile boyandıktan sonra histopatolojik olarak incelendi. İntersitisyel alanlarda kapiller vazodilatasyon/ konjesyon, tübüllerde dilatasyon / cast formasyonu, tübül epitelinde fırçamsı kenar kaybı, vakuolizasyon, epitelin lümene dökülmesi, intersitisyel yapıda

inflamasyon / fibrozis varlığı, glomerüllerde morfolojik değişiklikler değerlendirilerek skorlandı. Biyokimyasal olarak serumdan üre, kreatin, total oksidan seviye, total antioksidan seviye, oksidatif stres indeksi, total tiyol ile native tiyol seviyeleri, tiyol-disülfid oranı, paraoksonaz-1 seviyesi, iskemi modifiye albümin seviyesi ölçüldü. Çalışma verilerinin istatistiksel analizinde (SPSS versiyon 20) Mann-Whitney U testi, Kruskal-Wallis testi, Dunn testi, Wilcoxon işaretli sıralar testi, Friedman testi ve Pearson ki-kare testi kullanıldı.

Bulgular: Grupların başlangıçta arteriyel hattan alınan kan örneklerinden çalışılan kan gazı parametrelerinin karşılaştırılmasında fizyolojik sınırlar içinde sonuca etkisinin olacağı düşünülmeyen değerler dışında istatistiksel olarak farklılık saptanmadı. Grup İR'de başlangıçtaki, iskemi sonrası 40.dakikadaki, reperfüzyon 70.dakikadaki ve reperfüzyon 100.dakikadaki klor değerleri ($p=0.02$) ve kalsiyum ($p=0.03$) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Grup C'nin başlangıçtaki HCO_3 düzeyi ile sitrat infüzyonu 90.dakikadaki HCO_3 düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p=0.04$). Grup C'nin başlangıçtaki Ca düzeyi ile sitrat infüzyonu 90.dakikadaki Ca düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0.03$). Grup İR+C'nin başlangıçtaki, sitrat infüzyonu sonrası 60.dakikadaki, iskemi sonrası 100.dakikadaki, reperfüzyon 130.dakika ve reperfüzyon 160.dakikadaki Cl değerleri arasında ($p=0.009$), Ca değerleri arasında ($p=0.002$), laktat değerleri arasında ($p=0.01$), glukoz değerleri arasında ($p=0.008$), HCO_3 değerleri arasında ($p<0.001$) ve BE değerleri arasında ($p=0.004$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Dört çalışma grubunun kreatin düzeyleri arasında ($p<0.001$) ve üre düzeyleri arasında ($p<0.001$) istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi. Grupların histopatolojik skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p=0.001$). TOS düzeyleri arasında ($p=0.048$) ve TAS düzeyleri arasında ($p=0.016$) istatistiksel olarak anlamlı fark görülürken OSİ değerleri arasında anlamlı fark görülmedi. T-Tiyol düzeyleri ($p=0.002$) ve N-Tiyol düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.001$) olduğu saptandı. Tiyol/disülfid düzeyleri karşılaştırıldığında sonuç istatistiksel olarak anlamlı görüldü ($p<0.001$). Gruplar arasında PON-1 düzeyleri ($p<0.001$) ve İMA düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edildi ($p=0.001$).

Sonuç: Çalışmamızda böbreklerde oluşturduğumuz İR hasarının oksidatif hasara yol açtığını gözlemledik. Sodyum sitrat infüzyon uygulaması oksidatif hasarı TAS seviyesini artırıp TOS seviyesini azaltarak hafifletmiştir ve tiyol/disülfid dengesine tiyoller yönünde olumlu katkıda bulunmuştur. Histopatolojik incelemelerde sitratın önkoşullayıcı etkisinin böbreği İR hasarından koruduğunu gözlemledik. Sonuç olarak sitratın, böbrek İR hasarının olumsuz etkilerini azaltmada faydalı olabileceği kanısındayız.

Anahtar kelimeler: Böbrek iskemi reperfüzyon hasarı; Oksidatif Stres; TAS, TOS, OSİ; Tiyol/Disülfid Dengesi; PON-1; İMA



Abstract

EVALUATION OF THE PRE-CONDITIONING EFFECT OF CITRATE IN RENAL ISCHEMIA-REPERFUSION DAMAGE IN RATS BY HISTOPATHOLOGIC METHODS AND OXIDATIVE STRESS PARAMETERS

Aim: We aimed to investigate the preconditioning effect of citrate on kidney ischemia-reperfusion injury in rats by biochemical methods such as total oxidant/antioxidant levels, thiol/disulfide balance, paraoxonase-1 enzyme level, ischemia modified albumin levels and by histopathological methods.

Materials and Methods: A total of 24 adult male Wistar-Albino rats weighing between 285-370 g were used in our study. After general anesthesia, tracheostomy was opened and invasive mechanical ventilation was applied to all rats. In all groups, arterial pressure and heart rate were measured and recorded with a catheter placed in the femoral artery. The rats were divided into 4 groups by closed envelope method. In the sham operation group (Group S), blood samples were taken after laparotomy and the kidneys were removed. In the ischemia-reperfusion group (Group IR), bilateral renal pedicles were clamped and the kidneys were exposed to ischemia for 40 minutes. Then the clamps were removed and reperused for 60 min. Citrate group (Group C) was administered 4% sodium citrate solution at a dose of 1 mmol/kg/hour from one tail vein and 10% calcium gluconate solution at a dose of 2 ml/kg/hour from the other tail vein for 90 min. In the ischemia-reperfusion + citrate group (Group IR+C), 4% sodium citrate was infused at a dose of 1 mmol/kg/hour and 10% calcium gluconate at a dose of 2 ml/kg/hour through the tail veins for 60 min. After the infusions were stopped, the kidneys were clamped for 40 min. After ischemia, the clamps were removed and the kidneys were reperused for 60 min. In the first 30 minutes of reperfusion, sodium citrate and calcium infusions were reapplied at the same doses. At the end of the study, the removed kidneys in all groups were fixed in 10% neutral formaldehyde solution. Kidney specimens were stained with hematoxylin-eosin and examined histopathologically. Capillary vasodilatation / congestion in interstitial areas, dilatation / cast formation in tubules, loss of brushy edge in tubule epithelium, vacuolization, shedding of epithelium into the lumen, presence of inflammation / fibrosis in interstitial structure, morphological changes in glomeruli were evaluated and scored. Biochemically, urea,

creatinine, total oxidant level, total antioxidant level, oxidative stress index, total thiol and native thiol levels, thiol-disulfide ratio, paraoxonase-1 level, ischemia modified albumin level were measured. Mann-Whitney U test, Kruskal-Wallis test, Dunn test, Wilcoxon signed-rank test, Friedman test and Pearson chi-square test were used for statistical analysis (SPSS version 20).

Results: There was no statistical difference in the comparison of the blood gas parameters studied from the blood samples taken from the arterial line at the beginning of the groups, except for the values within the physiologic limits which were not thought to have an effect on the result. There was a statistically significant difference between the chlorine ($p=0.02$) and calcium ($p=0.03$) values of Group IR at baseline, 40 minutes after ischemia, 70 minutes after reperfusion and 100 minutes after reperfusion. There was a statistically significant difference between the baseline HCO_3 level of Group C and the HCO_3 level at 90 minutes of citrate infusion ($p=0.04$). There was a statistically significant difference between the baseline Ca level of Group C and the Ca level at 90 minutes after citrate infusion ($p=0.03$). There were statistically significant differences between the baseline Cl levels ($p=0.009$), Ca levels ($p=0.002$), lactate levels ($p=0.01$), glucose levels ($p=0.008$), HCO_3 levels ($p<0.001$) and BE levels ($p=0.004$) of Group IR+C at baseline, 60 minutes after citrate infusion, 100 minutes after ischemia, 130 minutes of reperfusion and 160 minutes of reperfusion. Statistically significant differences were observed between creatine levels ($p<0.001$) and urea levels ($p<0.001$) of the four study groups. A statistically significant difference was observed between the histopathologic scores of the groups ($p=0.001$). Statistically significant differences were observed between TOS levels ($p=0.048$) and TAS levels ($p=0.016$), but no significant difference was observed between OSI values. A statistically significant difference ($p<0.001$) was found between T-thiol levels ($p=0.002$) and N-thiol levels. When thiol/disulfite levels were compared, the result was statistically significant ($p<0.001$). There was a statistically significant difference between the groups in terms of PON-1 levels ($p<0.001$) and IMA levels ($p=0.001$).

Conclusion: In our study, we observed that IR injury caused oxidative damage in the kidneys. Sodium citrate infusion alleviated the oxidative damage by increasing the TAS level and decreasing the TOS level and contributed positively to the thiol/disulfide balance in the direction of thiols. In histopathological examinations, we observed that the preconditioning effect of citrate protected the kidney from IR injury. In conclusion, we believe that citrate may be useful in reducing the adverse effects of renal IR injury.

Key words: Renal ischemia-reperfusion injury; Oxidative stress; TAS, TOS, OSI; Thiol/Disulfide Equilibrium; PON-1; IMA



İçindekiler

Şekil Listesi	xiii
Resim Listesi	xiv
Tablo Listesi	xv
Kısaltmalar	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 BÖBREK ANATOMİSİ.....	3
2.2 BÖBREK FİZYOLOJİSİ.....	6
2.3 İSKEMİ.....	7
2.4 İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI.....	8
2.4.1. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres.....	9
2.4.1.1. Süperoksit Radikali (O ₂ ⁻).....	9
2.4.1.2. Hidroksil Radikali (OH ⁻).....	10
2.4.2. Polimorf Nüveli Lökositler (PMNL).....	10
2.4.3. Kompleman Sistemi.....	11
2.4.4. Endotel Hücresi.....	11
2.5 İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARININ BÖBREK ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ.....	11
2.6 ANTİOKSİDAN SİSTEMLER.....	12
2.6.1. TOS, TAS ve OSİ.....	14
2.6.2. Tiyo/Disülfid Dengesi.....	14
2.6.3. İskemi Modifiye Albümin (İMA).....	15
2.6.4. Paraoksonaz-1.....	15
2.7 SİTRAT VE KLİNİK KULLANIMI.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1 ÇALIŞMADA KULLANILAN HAYVANLAR VE ANESTEZİ.....	17
3.2 ÇALIŞMA GRUPLARI VE PROTOKOL.....	17
3.2.1. Sham grubu (Grup S).....	20
3.2.2. İskemi-reperfüzyon grubu (Grup İR).....	20

3.2.3. Sitrat Grubu (Grup C).....	21
3.2.4. İskemi-Reperfüzyon + Sitrat Grubu (Grup IR+C).....	22
3.3 BÖBREK İSKEMİ-REPERFÜZYON MODELİ OLUŞTURULMASI.....	24
3.4 HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	24
3.5 BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME.....	25
3.5.1.Serum Örneklerinin Hazırlanması.....	25
3.5.2. Üre, Kreatin Analizi.....	25
3.5.3. TAS-TOS-OSİ Analizi.....	25
3.5.4. T-tiyol, N-tiyol, Disülfid Analizi.....	26
3.5.5. Paraoksonaz-1 (PON-1) Analizi.....	26
3.5.6. İskemi Modifiye Albümin (İMA) Analizi.....	27
3.6 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	27
4. BULGULAR	28
4.1 HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	34
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	50
5.1 SONUÇ.....	59
Kaynaklar	60
Etik Kurul Onay Formu	72

Şekil Listesi

2.1: Böbrekler ve komşulukları.....	4
2.2: Böbreğin arterleri.....	5
2.3: Hücre hasarında sitoplazmik kalsiyum artışının sonuçları.....	7
4.1: Kreatin düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U Testi).....	33
4.2: Üre düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C. arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U Testi).....	34
4.3: Histopatolojik skorların Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi).....	41
4.4: TOS düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi).....	43
4.5: TAS düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi).....	44
4.6: T-Tiyol düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi).....	45
4.7: N-Tiyol düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi).....	46
4.8: Tiyol/Disülfüt düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi).....	47
4.9: PON-1 düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi).....	48
4.10: İMA düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi).....	49

Resim Listesi

3.1: A) Sıçanların tıraşlanması, B) Povidon iyot ile temizlik, C) Trakeostomi açılması, D) Femoral Arter Kateterizasyonu.....	19
3.2: A) Sağ Böbrek ve Renal Arter, B) Sol Böbrek ve Renal Arter, C) Sağ Böbreğin Klemplenmesi, D) Sol Böbreğin Klemplenmesi.....	21
3.3: Sağ Böbreğin Reperfüzyonunun İlk Dakikalarındaki Makroskopik Değişimini 1'den 3'e Gösteren Resimler.....	23
3.4: Reperfüzyon Döneminde Batın Sütür ile Kapatılmış Rat.....	23
4.1: Grup S'de düzenli yapıda glomerüller (oklar) (H&Ex400).....	36
4.2: Grup S'de tübüllerde dilatasyon (oklar) (H&Ex200).....	36
4.3: Grup İR'de tübüler fırçamsı kenar kaybı (oklar) ve tübüler vakuolizasyon (ok başları) (H&Ex400).....	37
4.4: Grup İR'de tübül epitelinde lümene dökülme (oklar) (H&Ex400).....	37
4.5: Grup İR'de glomerülde büzüşme (ok) ve tübüler vakuolizasyon (ok başları) (H&Ex200).....	38
4.6: Grup C'de tübüllerin bir kısmında korunmuş fırçamsı kenar (ok) (H&Ex400).....	39
4.7: Grup İR+C'de düzenli yapıda glomerül (ok), tübül yapıları ve korunmuş fırçamsı kenar (ok başları) (H&Ex400).....	39

Tablo Listesi

2.1: Antioksidanların sınıflandırılması.....	13
4.1: Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C'deki ratların ağırlıklarının ve başlangıçtaki ortalama arter basıncı, kalp atım hızı ve arter kan gazı değerlerinin karşılaştırılması.....	28
4.2: Grup İR'in başlangıçtaki, iskemi sonrası 40.dk., reperfüzyon 70.dk. ve reperfüzyon 100.dk. alınan kan gazı parametrelerinin karşılaştırılması.....	29
4.3: Grup C'nin başlangıçtaki ve sitrat infüzyon 90.dakikadaki gazı parametrelerinin karşılaştırılması.....	30
4.4: Grup İR+C'nin başlangıçtaki, sitrat infüzyonu sonrası 60.dk, iskemi sonrası 100.dk ve reperfüzyon 130.dk kan gazı parametrelerinin karşılaştırılması.....	31
4.5: Grup S, Grup IR, Grup C ve Grup IR+C'deki ratların böbrek fonksiyon testlerinin karşılaştırılması.....	32
4.6: Histopatolojik değişimlerin çalışma gruplarındaki dağılımı.....	35
4.7: Histopatolojik skorların çalışma gruplarındaki dağılımı.....	40
4.8: Oksidatif stres ile ilişkili parametrelerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması.....	42

ABY.....	Akut Böbrek Yetmezliği
ACB.....	Albümin Kobalt Bağlama Testi
ADP.....	Adenozin Difosfat
AMP.....	Adenozin Monofosfat
ark.....	Arkadaşları
ATN.....	Akut Tübüler Nekroz
ATP.....	Adenozin Trifosfat
Ca ⁺²	Kalsiyum İyonu
Co ⁺²	Kobalt İyonu
Cu ⁺²	Bakır İyonu
CVVHDF.....	Sürekli Venö-Venöz Hemodiyafiltrasyon
DAB.....	Diyastolik Arter Basıncı
dak.....	Dakika
Eqv.....	Equivalent
FiO ₂	Solunan Havadaki Fraksiyone Oksijen Oranı
g.....	Gram
GFR.....	Glomerüler Filtrasyon Oranı
GSHPx.....	Glutasyon peroksidaz
H ₂ O.....	Su
H ₂ O ₂	Hidrojen Preoksit
HD.....	Hemodiyaliz
HOCl.....	Hipokloröz Asit
IL.....	İnterlökin
i.p.....	İntraperitoneal
i.v.....	İntravenöz
İR.....	İskemi Reperfüzyon
K ⁺	Potasyum İyonu
KAH.....	Kalp Atım Hızı
KD.....	Ksantin Dehidrogenaz
Kg.....	Kilogram
KO.....	Ksantin Oksidaz

L.....	Litre
M.....	Musculus
ml.....	Mililitre
mmHg.....	Milimetre Civa
MPO.....	Myeloperoksidaz
Na ⁺	Sodyum İyonu
Ni ⁺²	Nikel İyonu
Nm.....	Nanometre
NO.....	Nitrik Oksit
O ₂ ⁻	Süperoksit Radikali
OAB.....	Ortalama Arter Basıncı
OH ⁻	Hidroksil Radikali
OSİ.....	Oksidatif Stres İndeksi
PMNL.....	Polimorf Nüveli Lökositler
PON.....	Paraoksonaz
Rpm.....	Dakika Devir Sayısı
RRT.....	Renal Replasman Tedavisi
RSA.....	Rejyonel Sitrat Antikoagülasyonu
SAB.....	Sistolik Arter Basıncı
SOD.....	Süperoksit Dismutaz
SOR.....	Serbest Oksijen Radikalleri
SRRT.....	Sürekli Renal Replasman Tedavisi
TAS.....	Total Antioksidan Seviye
TDH.....	Tiyol Disülfid Dengesi
TOS.....	Total Oksidan Seviye
VCV.....	Volüm Kontrollü Ventilasyon

GİRİŞ VE AMAÇ

Akut böbrek yetmezliği glomerüler filtrasyon hızının saatler, günler içinde ani olarak azalması nedeniyle yaşamı tehdit eden atık ürünlerin vücuttan atılımının gerçekleşememesi sonucunda vücudun sıvı-elektrolit dengesinin bozulduğu böbrek fonksiyonlarındaki değişim olarak tanımlanmaktadır (1). Bir organa kan akışının kısıtlanması (iskemi) ve ardından perfüzyonun yeniden başlaması ile eşlik eden reoksijenasyon ile karakterize patolojik duruma reperfüzyon hasarı denir (2). İskemi-reperfüzyon hasarı akut böbrek yetmezliğinin en sık sebeplerinden biridir (3). Reperfüzyon sebebiyle açığa çıkan serbest oksijen radikalleri dokularda iskemik hasardan daha yıkıcı olabilir (4). Organizmada serbest oksijen radikalleri ve onların hasarını engelleyen antioksidan sistem bir denge halindedir (5).

Akut böbrek yetmezliğinde vücut sıvı-elektrolit dengesini sağlamak için ekstrakorporeal kan temizleme yöntemleri kullanılabilir. Bu sebeple şiddetli akut böbrek yetmezliği vakalarında renal replasman tedavisi (RRT) en önemli seçeneklerden biri haline gelmiştir. RRT' nin sıvı çekilmesi ve solüt atılması olmak üzere iki temel prensibi vardır. Sürekli renal replasman tedavisi (SRRT) sırasında sistemde pıhtılaşma olmadan ekstrakorporeal kan akımı sağlanmalıdır. Renal replasman sisteminde tromboz ve koagülasyonun önlenmesi için yeterli antikoagülasyon heparin, düşük molekül ağırlıklı heparin veya sitrat ile sağlanabilmektedir (6,7).

Uzun süreli heparin kullanımı ile ciddi kanama, trombositopeni (heparine bağlı trombositopeni) ve trombotik komplikasyonlar görülebilir. Düşük molekül ağırlıklı heparin böbreklerden atıldığı için böbrek fonksiyon bozukluğu olanlarda kullanmaktan kaçınmak gerekebilir. Sitrat ise 1990'lı yıllardan günümüze kadar sürekli diyaliz sistemlerinde etkin antikoagülan

yöntemi olarak kullanılmaktadır. Sisteme sitrat infüzyonu uygulandığında iyonize kalsiyum ile birleşerek sitrat kalsiyum kompleksini oluşturur. Bu reaksiyon ekstrakorporeal sistemdeki iyonize kalsiyum düzeyini düşürür ve sistemdeki pıhtılaşmayı önler (8).

Yapılan çalışmalarda sitratın iskemi-reperfüzyon nedenli akut böbrek hasarında mitokondriyal defisiti sınırlayarak koruyucu bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (9). Ayrıca akut böbrek hasarının tedavisinde sitratın terapötik etkisinin olduğu belirtilmiştir. Sitrat kullanımı için bir kontraendikasyon yoksa yüksek kanama riski olmayan ya da pıhtılaşma bozukluğu olmayan hastalarda dahi SRRT’de tercih edilmesi gereken antikoagülasyon yöntemi olarak önerilmektedir (9).

Böbrek fonksiyonlarının hayati önemi düşünüldüğünde hasarın oluşumunu engellemek morbidite, mortalite ve tedavi maliyetlerini azaltmaktadır. Bu yüzden antioksidan ve/veya antienflamatuvar özellikleri olan birçok maddenin bu hasarın azaltılmasına yönelik kullanımı konusunda çalışmalar yapılmaktadır (10–14). Çalışmamızı klinikte böbrek hasarı gelişmiş ya da gelişmekte olan hastalarda RRT’de sitratın kullanılıyor olmasından yola çıkarak oluşturduk. Çalışmamızda ratlarda böbrek iskemi reperfüzyon hasarı üzerinde sitratın önkoşullayıcı etkisini histopatolojik yöntemlerle ve total oksidan/antioksidan seviyeleri, tiyol/disülfid dengesi, iskemi modifiye albümin düzeyi, paraoksonaz-1 enzim seviyesiyle ilişkisini de biyokimyasal yöntemlerle araştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

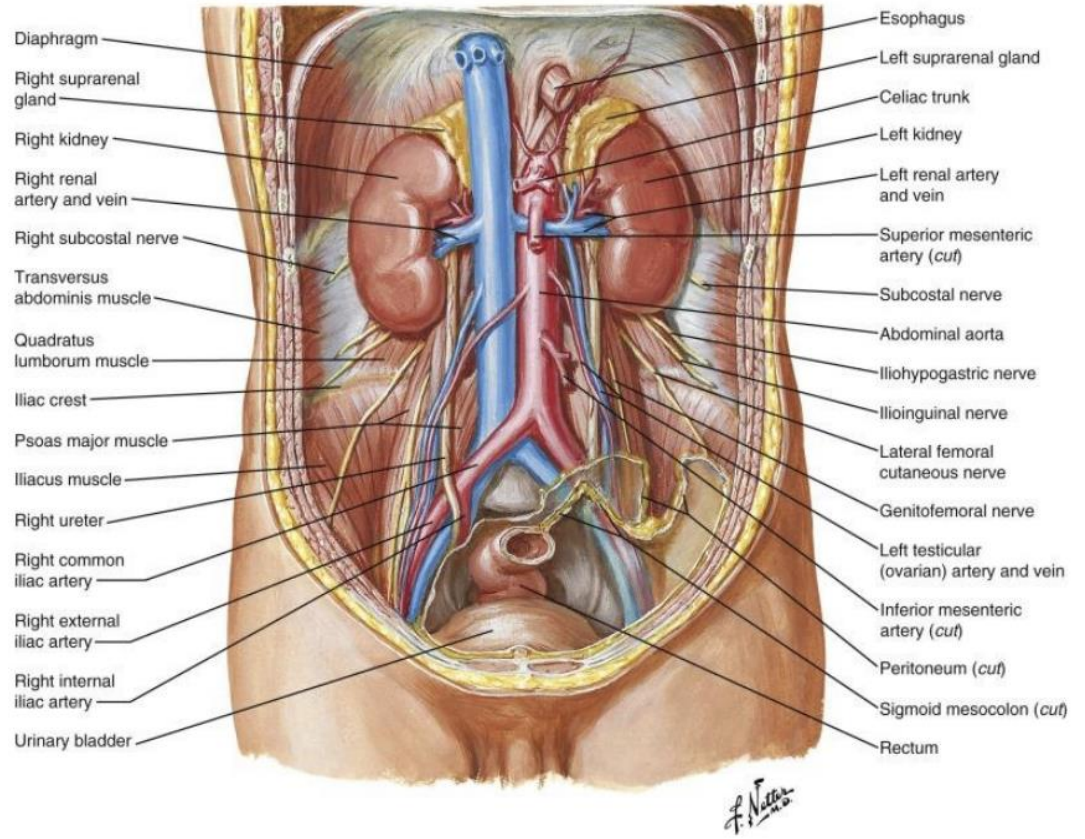
2.1 BÖBREK ANATOMİSİ

Böbrekler retroperitoneal bölgede, karın arka duvarına yaslanmış, kolumna vertebralisin her iki yanında ve psoas kasının lateraline yerleşmiş bir çift organdır. Üst ucu torakal 12. vertebra, alt ucu ise lumbal 3. vertebra hizasında olup her ikisi de hafif oblik şekilde durmaktadırlar.

Sağ böbrek karaciğer ile üst komşuluğundan dolayı sol böbreğe göre daha aşağıda bulunmaktadır. Böbreklerin uzunluğu 12-13 cm, eni 6-7 cm ve kalınlığı 2.5-3 cm olup ağırlıkları ortalama 150 gramdır.

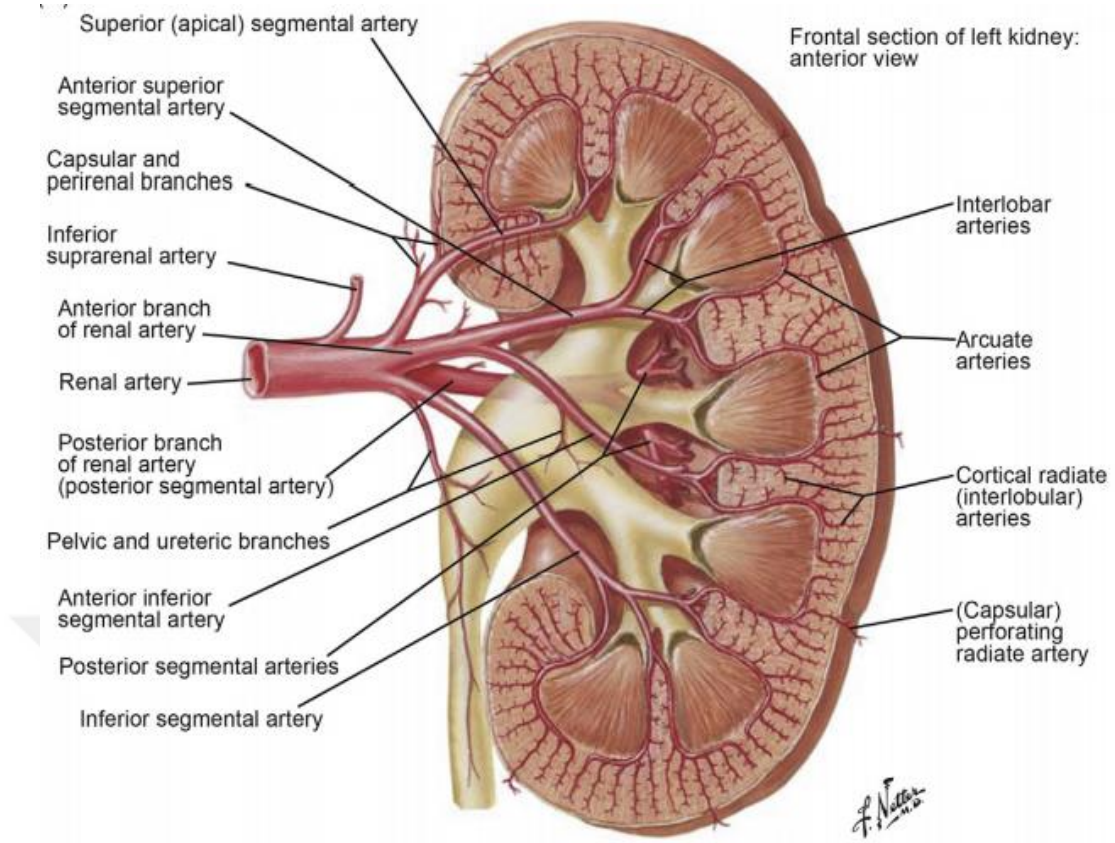
Sağ böbrek üstte adrenal bez ile karaciğer, hilus seviyesinde duodenumun retroperitoneal kısmı ile pankreas başı, altta ve lateral kenarda asendan kolon ile komşudur. Sol böbrek ise üstte adrenal bez ile önde ise mide, dalak, pankreas, jejunum ve desendan kolon ile komşuluk yapmaktadır. Her iki böbrek arkada diafragma, M. kuadratus lumborum ve M. psoas major kaslarına dayanmaktadır.

Böbrek dokusu en dıştan kalın ve sert bir zar olan fibröz kapsül ile sarılıdır. Ayrıca böbreklerin etrafında bulunan perirenal yağ dokusu ile böbrekler travmalardan korunmuş olur. Yağ dokusunun dışında kalın bir zar olan Gerota fasyası bulunur. Gerota fasyası diğer böbreğin Gerota fasyasıyla birleşerek karşı böbreğin perirenal yağ dokusunu da örter. Böbreklerin medial kesiminde hilus adı verilen yarık içerisinde renal arter, renal ven, üreter, lenfatikler ve sinirler geçiş yapar (15,16).



Şekil 2.1: Böbrekler ve komşulukları (17)

Böbreğin kan akımı normalde toplam kalp debisinin yaklaşık %20'si kadardır. Böbrekler aortadan lumbal 1. ve 2. vertebra hizasından çıkan renal arterler ile kanlanır. Renal arter hilustan böbreğe girince önce segmental, sonra interlobar ve daha sonra arkuat arterlere ayrılır. Arkuat arterlerden ayrılan interlobüler arterler ise Bowman kapsülüne giren afferent glomerüler arteriollere ayrılarak kılcal damar yumağı oluşturur. Afferent arterler glomerüler kapiller yumağı oluşturduktan sonra efferent arter olarak glomerülü terk eder. Efferent arterioller daha sonra dallanarak peritübüler kapiller ağı oluştururlar. Buradan gelen kan venöz sistemi oluşturarak arteriyel sistemle paralel şekilde interlobüler ven, arkuat ven, interlobar ven ve renal veni meydana getirir. Renal venler de vena kava inferiora drene olurlar.



Şekil 2.2: Böbreğin arterleri (18)

Böbrek uzunlamasına kesildiğinde görülen dıştaki soluk renkli kısma korteks, içteki daha koyu renkli kısma medulla, orta kısımdaki boşluğa ise sinus renalis denilmektedir. Medulla renal piramit denilen 8-10 adet koni şeklindeki yapıdan oluşur. Piramitlerin tabanları kortekste bulunurken tepe kısımları minör kaliks içine kadar uzanır. Kaliks içine açılan bu kısımlara papilla denilir. Piramit şeklindeki bu medulla alanları kolumna renalis (Bertini kolonları) denilen kortikal uzantılarla birbirinden ayrılırlar. Medullanın kan dolaşımı kortekse göre çok daha zayıf olup iskemik hasara oldukça duyarlıdır (19,20).

2.2 BÖBREK FİZYOLOJİSİ

Böbreğin fonksiyonel en küçük ünitesine nefron denilir. Her bir böbrekte yaklaşık olarak 1 milyon nefron bulunmaktadır. Nefronların rejenerasyon kapasitesi yoktur. Nefronlar glomerül ve tübüler sistem olmak üzere iki kısımdan oluşur. Nefronların yaklaşık %85'i böbreğin korteksinde yerleşen kortikal nefronlardır. Diğer %15'i ise böbreğin korteks ile medulla birleşme sınırında yer alan jukstaglomerüler nefronlar olarak adlandırılır (21).

Glomerül, Bowman kapsülü denilen bir kapsül içerisinde yer alan ve yaklaşık 60 mmHg gibi yüksek bir hidrostatik basınca dayanıklı kapiller ağdan oluşmuştur. Protein içermeyen yüklü miktarda sıvının glomerüler kapillerden Bowman kapsülü içine filtrasyonu ile idrar oluşumu başlamaktadır. Filtre olan sıvı Bowman kapsülünü terkedip sırasıyla proksimal tübül, Henle kulpu, distal tübül ve toplayıcı tübüller yoluyla ilerlemektedir. Tübüller boyunca önemli solütler ve su geri emilerek kana verilirken başka maddeler tübül içine salgılanabilmektedir. Tübüller yoluyla ilerleyen sıvı renal kalikslere açılır. Buradan da renal pelvise ve üretere geçerek mesaneye iletilir (22).

Böbreklerin fonksiyonlarını göstermek için en sık kullanılan ölçümlerden biri glomerüler filtrasyon hızıdır (GFR). Glomerüler kapillerden Bowman kapsülüne birim zamanda filtre edilen sıvı hacmine GFR denir. Glomerülden süzülüp tekrar emilemeyen veya sekresyona uğramayan maddelerin klirensi glomerüler filtrasyon hızına eşittir. Normalde GFR hızı dakikada 120 ml ve 24 saatte yaklaşık 180 litredir. Bu sıvının %99'u tübüllerden geri emilmektedir. Geri kalan yaklaşık 1200-1500 ml sıvı idrar olarak atılmaktadır. İnülin, tübüllerde reabsorbsiyona veya sekresyona uğramadan idrarla atıldığından, inülin klirensi GFR'yi gösterir. Glomerüler filtrasyona uğrayan kreatinin tübüllerden geri emilmez ancak bir miktar sekresyona uğrayabilmektedir. Pratik uygulanması ve plazma düzeyinin sabit olması sebebiyle GFR ölçümünde en sık kullanılan yöntem kreatin klirensidir. Kreatinin klirensi değeri, inülin klirensi gibi kabul edilmektedir (23).

Böbrekler temel olarak:

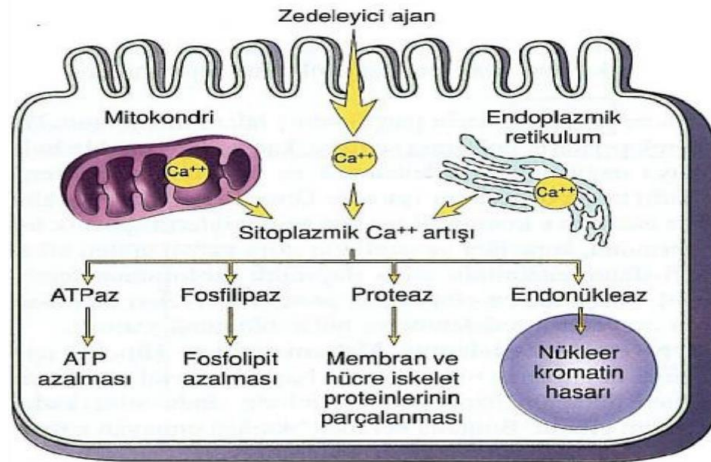
- İdrarın oluşturulmasında,
- Metabolik ve eksojen artık maddelerin eliminasyonunda,
- Plazma osmolalitesinin dengelenmesinde,
- Asit-baz dengesinin ve elektrolit dengesinin korunmasında,

- D vitamini, eritropoietin, büyüme faktörleri gibi hormon ve benzer maddelerin salgılanmasında,
- Bazı peptit yapılı hormonların ve bazı proteinlerin katabolizmasında,
- Glukoneogenez ve lipid metabolizmasında görev alırlar (24).

2.3 İSKEMİ

Bir organ ya da dokunun kan akımının azalması veya kesilmesi sebebiyle perfüzyonunun bozularak oksijen ve besinden yoksun kalmasına iskemi denilmektedir. İskemi sebebiyle hücresel enerji depoları boşalır ve toksik metabolitler birikmeye başlar (25). Dokuya giden kan akımının azalması ile oksidatif fosforilasyon yapılamayacağından adenosin trifosfat (ATP) gibi yüksek enerjili fosfatların sentezi azalır (26). Hücrede yeterli enerji üretilmediğinde hücre zarında bulunan sodyum-potasyum adenosin trifosfataz ($\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPaz}$) pompası inhibe olur. Böylece sodyum ve klor iyonları hücre içine girerken potasyum iyonu hücre dışına çıkar (27).

Hücre içi ve hücre dışı kalsiyum (Ca^{+2}) iyon düzeyi de ATP bağımlı bir pompa ile düzenlenir. Yeterli ATP bulunmadığında hücre içinde Ca^{+2} miktarı artışı ile proteolitik enzimler ve fosfolipazlar aktive olur. Fosfolipaz A2 aktivasyonu ile membranların yapısı bozularak geçirgenlikleri değişir. Fosfolipaz A2 aktivasyonu ile araşidonik asit yapımı artar. Araşidonik asit de mitokondriyal enzimleri inhibe ederek serbest radikal oluşumunu artırır (28).



Şekil 2.3: Hücre hasarında sitoplazmik kalsiyum artışının sonuçları (29)

İskemi sebebiyle anaerobik metabolizmanın artması sonucunda hücre içinde karbondioksit miktarı ve laktik asit oluşumu artarak asidoz gelişir. ATP miktarı ve pH'nın azalması endoplazmik retikulumlardan ribozomların ayrışmasına neden olarak protein sentezinin bozulmasına yol açar (29) . Şiddetli iskemiye maruziyet sonrasında hücre içinde laktat, inorganik fosfat, kreatin gibi hücre içi ozmotik etkili partiküllerin artması sebebiyle hücre içine su çekilerek ödem meydana gelir (30).

2.4 İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI

İskemiye uğrayan doku veya organlara kan akımının yeniden başlayarak enerji ihtiyacının sağlanması ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması olayına reperfüzyon denir. İskemik dokunun reperfüzyonu dokularda yalnızca iskemi sonucunda oluşana göre daha ciddi bir hasara neden olabilir (25). İskemi reperfüzyon (İR) hasarına en çok duyarlı olan hücresel yapılar membran lipidleri, proteinler ve nükleik asitlerdir (31). İskemi sebebiyle ATP üretilemediği halde kullanılmasının devam etmesiyle ATP'den adenosin difosfat (ADP), adenosin monofosfat (AMP) ve adenosin oluşur. Adenosin hücre dışına çıkarak inozin ve hipoksantine dönüşür. Normal durumlarda hipoksantin, ksantin dehidrogenaz (KD) enzimiyle ksantin ve ürik asite metabolize olur. Bu reaksiyonda son elektron alıcısı olarak nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu (NAD^+) kullanılır. Ancak iskemi sebebiyle membran gradientinin bozularak hücre içine fazla miktarda Ca^{+2} girmesiyle proteazların aktifleşmesi sonucu ksantin dehidrogenaz ksantin oksidaza (KO) dönüşür. KO enzimi bu reaksiyonda elektron alıcısı olarak moleküler oksijen kullanılır. Reperfüzyonun başlamasıyla ortamda oksijenin bulunması, hipoksantin ksantine oksidasyonuna ve serbest oksijen radikallerinin (SOR) ortaya çıkmasına yol açar (32).

İR hasarının oluşumundan sorumlu olan çeşitli hücresel ve humoral olaylardan özellikle;

- Serbest oksijen radikalleri (SOR),
- Polimorf nüveli lökositler (PMNL),
- Kompleman sistemi,
- Endotel hücrelerinin rolü üzerinde durulmaktadır (33).

2.4.1. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Elektronlar orbita denilen yörüngelerde hareket ederler. Her orbitada daima ters yönde hareket eden iki elektron bulunur (34). En dış orbitalinde eşlenmemiş ve son derece reaktif elektron bulunduran atom, molekül, iyonlara serbest radikal denir (35). Serbest radikaller yarı ömürleri çok kısa ve reaktif yapılardır. Son yörüngedeki tek elektronlarını eşlemek üzere diğer moleküller ile hızla reaksiyona girip elektronlarını kopararak yapılarını değiştirirler. Bu molekülleri de radikale dönüştürürler ve zincir şekilde reaksiyonları başlatırlar. Başlayan bu reaksiyon membranlardaki yağ asitleri tükeninceye kadar sürmektedir. Sonuçta membran, seçici geçirgenliğini kaybeder ve hücre parçalanır (36).

Organizmada serbest radikallerin oluşması ve bunların ortadan kaldırılması bir denge içerisindeydir. Organizma bu oksidatif dengeyi sağladığı sürece serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma veya eliminasyon hızında bir azalma olması sonucunda dengenin bozulmasına oksidatif stres denir. Serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengesizlik oksidatif strese yol açar. Oksidatif stres sonucunda protein, lipid, karbonhidrat ve nükleik asit gibi hücre yapıları bozularak doku hasarı gelişir (37).

Moleküler oksijen en dış orbitalinde eşlenmemiş bir çift elektron taşıdığı için serbest radikaldir. Bu elektronların her biri farklı bir orbitalde olup paralel yönde spin hareket etmektedir. Böylece oksijen molekülüne aynı anda iki elektronun birden bağlanması engellenmiş olur. Bu sebeple oksijen molekülü bir kimyasal bağ oluşturabilmesi için bir elektron almayı tercih eder (34).

2.4.1.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)

Atmosferden solunan oksijenin yaklaşık % 95'i mitokondrilerde ATP sentezinde kullanılırken, yaklaşık %5'i de son yörüngelerinde eşlenmemiş elektron içermesi sebebiyle serbest radikallere dönüşmektedir (38). Oksijenin endoplazmik retikulumda, mitokondride, plazma membranında, peroksizomlarda ve sitozolde suya indirgenmesi sırasında ilk olarak süperoksit radikali oluşmaktadır. Süperoksit radikalının üretilmesi kolay, miktarı fazla ve başka radikallerin oluşmasına sebep olan bir radikaldir (39). Anyon kanalları yoluyla ya da difüzyon ile plazma membranlarını geçerek

uzak bölgelere ulaşabilirler (40). Süperoksit radikali antioksidan ve bakırlı bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) tarafından hidrojen peroksit (H_2O_2) ve suya indirgenir (41). H_2O_2 'nin kendisi tek başına bir radikal olmayıp önemli bir oksidandır ve katalaz ile glutatyon peroksidaz (GSHPx) tarafından toksik olmayan ürünlere dönüşür (42).

2.4.1.2. Hidroksil Radikali (OH^-)

Hidroksil radikali, oksijen radikallerinden yarı ömrü en kısa ve en toksik olan radikaldir. Üretildiği kaynaktan uzaklaşmadan yakın hedefleri etkiler (43). Başlıca Fenton Reaksiyonu, Haber-Weiss Reaksiyonu ve suyun yüksek enerjili radyasyona maruz kalmasıyla oluşmaktadır. H_2O_2 'nin, demir ile bakır, krom gibi diğer geçiş elementleri varlığında indirgenerek OH^- oluşturmaya Fenton Reaksiyonu denir. H_2O_2 'nin süperoksit radikali varlığında bakır ve demir tarafından katalizlenerek OH^- radikalini oluşturmaya ise Haber-Weiss Reaksiyonu denmektedir (44).

Hidroksil radikali protein, karbonhidrat ve lipitler gibi makro moleküllerle reaksiyona girer ve bu yapılarda oksidatif hasara yol açar. Bir hidroksil radikal antioksidanının etkili olabilmesi için organizmada yüksek konsantrasyonlarda bulunması gerekir. Bu nedenle hidroksil radikalının oluşumunun engellenmesi, bu radikalın temizlenmesinden daha etkilidir (38).

2.4.2. Polimorf Nüveli Lökositler (PMNL)

Böbrek İR hasarında üretilen serbest radikaller, araşidonik asit metabolitleri ve sitokinler sonucu dolaşımdaki nötrofiller hasarın olduğu bölgeye ulaşarak hasarı daha fazla artırır. İçerdikleri myeloperoksidaz enzimiyle H_2O_2 ile klorür iyonundan güçlü bir antibakteriyel ürün olan hipokloröz asiti (HOCl) oluşturur. HOCl yapısında eşleşmemiş elektron bulunmamasına rağmen bir oksidandır (45). Aktif nötrofiller damar içinde oluşturdukları agregasyonlar ile damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya sebep olur (25).

Nötrofillerin aktivasyonu sonucu salınan bazı proteolitik enzimler, kompleman aktivasyonuna ve damar endotelinde hasara sebep olur. Proteinazların etkisiyle damar duvar yapısının değişip gevşemesiyle nötrofillerin dokuya geçişi kolaylaşır (46).

2.4.3. Kompleman Sistemi

Sitokinler, inflamasyona yanıt olarak başlıca nötrofil, makrofaj, endotel hücrelerinden sentezlenen proinflamatuvar veya inflamatuvar proteinlerdir. IL -1, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler proinflamatuvar sitokinlerdir ve bağışıklık cevabın oluşmasında rol alırlar. İR hasarı kompleman sistemini aktive eder. Kompleman aktivasyonu sonucu TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler ile lökositler aktive edilir ve inflamatuvar cevap güçlendirilir (47).

2.4.4. Endotel Hücresi

Endotel, SOR üretim kaynağı olmasının yanında mikrovasküler alanda dengeden sorumlu olan endotelini ve nitrik oksiti (NO) üretir. Arteriyel sistemde endotelinin vazokonstrüktör etkisine karşılık NO vazodilatatördür. İR hasarı sonucunda oluşan oksidatif stres, endotel hücrelerinin aktivasyonuna ve işlevlerinin bozulmasına sebep olur. Reperfüzyonun erken döneminde aktive edilmiş endotelde üretilen süperoksit radikali artarken NO üretimi azalır. Bu dengenin bozulması, endotel hücrelerinden inflamatuvar sitokinlerin salınmasına, arteriyel vazokonstrüksiyona ve lökosit-endotel hücre adhezyonuna yol açar (48,49).

2.5 İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARININ BÖBREK ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Böbrekler yüksek enerji gereksinimi ve kompleks mikrovasküler damar yapıları sebebiyle İR hasarına karşı oldukça duyarlıdır (50). Bu nedenle renal İR hasarı öncelikle hipoksiye duyarlı olan medulladan başlar.

Böbreklerin damar yapılanmasına göre korteksi, medullaya göre daha çok kanlanır. Böbrek dokusunda oksijen basıncı korteksten medullaya gittikçe azalır. Bu durum renal medullayı İR hasarına ve hipoksemiye karşı daha duyarlı hale getirmektedir (51).

Böbreklerde şiddetli dehidratasyon, sistemik hipotansiyon, hipovolemik şok, yanık, sepsisemi, kardiyak arrest, renal arter trombozu/embolisi, böbrek transplantasyonu, parsiyel nefrektomi ve aortun klemplenmesi gibi klinik durumlar sırasında İR hasarı oluşabilmektedir (52,53). Bu hasarın şiddeti iskemi stresine göre değişmektedir.

İskemik böbrekte gelişen çeşitli tübüler hasarlar akut tübüler nekroz (ATN) oluşmasında rol oynamaktadır. Tübüler hasarın yanı sıra, reperfüzyon sağlandıktan sonra oluşan serbest radikallerin de böbrek hasarında önemli rol oynadığı bilinmektedir. Böbreklerde proksimal tübüllerin, distal tübüllere kıyasla metabolizmalarının ve prooksidan-antioksidan hücresel savunma sistem yapılarının farklı olması sebebiyle iskemik hasara daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (54). Böbreklerde iskemi sonucu proksimal tübül hücrelerinde fırçamsı kenarlarının yapıları bozulmakta ve hücreler bazal membrandan koparak tübül lümenini tıkamaktadır. Bu geri dönüşümsüz hasarın, iskeminin GFR'de azalmaya yol açmasının temel sebeplerinden biri olduğu düşünülmektedir (55). Klinik durum belirgin bir doku hasarı olmaksızın gelişen prerenal azotemiden, akut böbrek yetmezliğine kadar değişebilen farklı senaryolar ile karşımıza çıkabilmektedir (56).

Renal iskemi reperfüzyon hasarı akciğer, beyin ve karaciğer gibi uzak organ hasarına ve yetmezliğe sebep olarak yüksek mortalite ile ilişkili olabilir (57). Böbrek İR hasarı birbiriyle ilişkili hipoksi, inflamatuvar yanıt ve serbest radikal hasarı ile ilişkilidir. Oluşan böbrek hasarının etyolojisine ve bu hasarın önlenmesine yönelik çalışmalar günümüzde devam etmektedir. Hasarın önlenmesinde ve tedavisinde antioksidanların serbest radikalleri tutucu görevleri araştırılmaya devam etmektedir (58).

2.6 ANTİOKSİDAN SİSTEMLER

Serbest radikallerin sabit durum konsantrasyonları, üretim hızları ile çeşitli antioksidanlar tarafından uzaklaştırılma hızları arasındaki denge ile belirlenir. İronik bir şekilde, farklı SOR aracılı faaliyetler aslında hücreleri SOR kaynaklı hasara karşı korur ve aynı zamanda redoks dengesini yeniden oluşturup sürdürürler. Ancak hücresel hasardan sorumlu olan yüksek konsantrasyondaki serbest radikallere karşı organizmalar hücrelerini ve organ sistemlerini korumak için, son derece sofistike ve karmaşık bir antioksidan koruma sistemi geliştirmişlerdir. Antioksidanlar kendileri oksitlenirken oksidatif süreci önemli ölçüde inhibe eden veya geciktiren düşük konsantrasyonlardaki maddeler olarak tanımlanır. Serbest radikalleri nötralize edip vücutta redoks dengesini korumak için endojen (vücutta sentezlenebilen) ve eksojen (vücutta sentezlenemeyen) antioksidanlar kullanılır. Eksojen antioksidanlar dışardan alınması gerekir ve endojen

antioksidanların vücudu korumasına yardımcı olmak için hayati bir rol oynarlar (42,59,60).

Tablo 2.1: Antioksidanların sınıflandırılması

A. YAPISINA GÖRE SINIFLANDIRMA 1.Enzimatik Antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz, Glutatyon Peroksidaz (GSHPx) ve Glutatyon Redüktaz (GR) 2.Enzimatik Olmayan Antioksidanlar: a. Metabolik Antioksidanlar: Redükte Glutatyon (GSH), Lipoid asit, L-arjinin, Melatonin, Ürik asit, Bilirubin, Transferrin vb. b. Metabolik Olmayan Antioksidanlar: Vitamin E, Vitamin C, Karotenoidler, Flavonoidler, Omega-3 ile Omega-6 yağ asitleri, Selenyum, Çinko, Mangan vb.
B. KAYNAĞINA GÖRE SINIFLANDIRMA 1. Endojen Antioksidanlar: Bilirubin, Glutatyon, Lipoik Asit, N-asetil sistein, NADPH, NADH, Ürik asit, Enzimler (SOD,GSHPx,GR), Ubikinon vb. 2. Diyetteki Antioksidanlar: Vitamin C, Vitamin E, Karotenoidler, Polifenoller (Flavonoidler, Proantosiyanidin) vb. 3. Metal Bağlayıcı Proteinler: Albümin, Seruloplazmin, Ferritin, Myoglobin, Transferrin
C. ETKİ MEKANİZMASINA GÖRE SINIFLANDIRMA 1. SOR Nötralize Eden Katalitik Sistemler: SOD, GSHPx, Katalaz 2. SOR Üretimini Engelleyen Metal İyon Bağlayıcıları: Ferritin, Seruloplazmin, Katehinler 3. SOR Süpürücüler: Vitamin C, Vitamin E, Ürik Asit, Glutatyon, Flavonoidler 4. Enerji Absorblayan Kimyasal Tuzaklayıcılar: Karotenoidler, Antosiyanidinler

2.6.1. Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Seviye ve Oksidatif Stres İndeksi

Birçok oksidan ve antioksidan molekülün serum veya plazma düzeyleri ayrı ayrı ölçülebilmektedir (61). Bu moleküllerin tek tek incelenmesi hücre içi toplam oksidan stresi ve antioksidan kapasiteyi göstermekte yetersiz kalabilmektedir. Örneğin serum içinde hala bilinmeyen antioksidanlar olabilir. Ayrıca ayrı ayrı ölçüm yapmak zor ve zaman alıcı olup ekonomik değildir. Bu sebeple oksidan ve antioksidan kapasitesinin ayrı ayrı ölçülmesi yerine total oksidan seviye (TOS) ve total antioksidan seviye (TAS) ölçülmesi daha pratiktir. Reaktif oksijen radikalleri veya antioksidan tampon sisteminin yetersizliği sonucu gelişen oksidatif stresin vücuttaki düzeyi için TOS düzeyi ölçülebilmektedir. Serbest radikal hasarına maruz kalmış organizmadaki koruyucu antioksidan kapasite ise TAS düzeyi ile belirlenmektedir (62,63). Oksidatif stres indeksi (OSİ), TOS değerinin TAS değerine bölünmesiyle hesaplanmaktadır. OSİ bir oksidatif stres belirtecidir ve artmış olması dengenin oksidatif stres yönüne bozulduğunu göstermektedir (64).

2.6.2. Tiyol/Disülfid Dengesi

Tiyoller cıvaya bağlanabilme özelliğinden dolayı merkaptanlar olarak da adlandırılır ve sülfür, hidrojen ile karbon atomlarının oluşturduğu sülfhidril (-SH) grubu içeren organik bileşiklerdir (65). Plazmada tiyol havuzunu albümin tiyolları, protein tiyolları ve düşük molekül ağırlıklı tiyoller oluşturmaktadır. Düşük molekül ağırlıklı tiyoller grubu içerisinde sistein, sisteinilglisin, glutatyon, homosistein ve γ -glutamil sistein bulunur (66). Tiyoller, oksidatif stres koşulları altında geri dönüşümlü bir reaksiyonla oksidasyona uğrayıp çift kükürt atomu içeren kovalent disülfid (SS-) bağlarını oluşturabilir. Disülfid bağları tiyol gruplarına tekrar indirgenebilir. Bu dinamik olaya tiyol/disülfid dengesi denir (67). Tiyol/disülfid dengesi antioksidan korunma, detoksifikasyon, sinyal iletim, hücre büyümesi ve apoptozu gibi hücrel aktivite ve yanı sıra birçok hastalığın etyopatogeneğinde kritik role sahiptir (68–70). Dinamik tiyol/disülfid dengesi hücrelerdeki oksidatif hasarı göstermede kritik rol alır ve total tiyol, native tiyol, disülfid miktarları ile bunlar arasındaki oranlar periferik kandan spektrofotometrik yöntemlerle ölçülebilmektedir (68).

2.6.3. İskemi Modifiye Albümin (İMA)

Albümin karaciğerde sentezlenen, kanda endojen ve eksojen kaynaklı toksik maddeleri taşıyan bir proteindir. Albüminin amino ucu (N-terminal) kobalt (Co^{+2}), nikel (Ni^{+2}), bakır (Cu^{+2}) gibi geçiş metallerin primer bağlanma yeridir (71). Serbest radikal hasarı, membran harabiyeti, serbest demir ve bakıra maruz kalma, asidoz ve hipoksi gibi durumlarda albüminin N-terminal ucu yapısal değişikliğe uğrar. Geçiş metalleri bağlama kapasitesi azalmış bu varyant proteine iskemi modifiye albümin (İMA) denilmektedir (72).

2.6.4. Paraoksonaz-1

Paraoksonaz organofosfatlı bir bileşik olan paraoksonu hidrolize edebilen bir serum esterazdır. İnsanlarda paraoksonaz (PON) gen ailesi PON-1, PON-2 ve PON-3 olmak üzere 3 üyeden oluşmaktadır. Bunlardan PON-1 ile PON-3 dolaşımda HDL-kolesterole bağlı şekilde bulunur ve PON-2 hücre içi bir enzim olduğundan dolaşımda bulunmaz (73,74). Hem paraoksonaz hem de arilesteraz aktivitesine sahip olan PON-1 çoğunlukla karaciğer, böbrek ve kolonda sentezlenmektedir (75). Paraoksonaz-1'in başlıca görevi LDL'de lipit peroksitleri hidroliz ederek oksidasyondan korumak ve paraoksonun detoksifikasyonunu sağlamaktır (76). Ayrıca paraoksonaz enziminin, peroksidaz benzeri aktivitesinin lipoprotein oksidasyonuna karşı koruyucu etkiyle aterosklerozun önlenmesinde görev aldığı belirtilmektedir (77). Egzersiz ile PON-1 aktivitesi arasında ilişki olduğu gösterilmiştir ve egzersize adaptasyon sonucu artan PON-1 seviyesi antioksidan koruma sağlamaktadır (78).

2.7 SİTRAT VE KLİNİK KULLANIMI

Akut böbrek yetmezliği (ABY) hala yaşamı tehdit eden bir hastalıktır. Son birkaç yılda hafif ABY formlarının bile azalmış hasta sağkalımı ve kronik böbrek hastalığının ilerlemesine eşlik ettiği gösterilmiştir (79,80). ABY gelişmesinde renal perfüzyon bozuklukları, vasküler hastalıklar, glomerulonefritler, nefrotoksik ajanlar, renal obstrüksiyon, sepsis ve iskemi gibi çeşitli klinik durumlar rol almaktadır (4). Şiddetli ABY olgularında renal replasman tedavisi (RRT) en önemli tedavi seçeneklerinden biri olmaktadır ve hemodiyaliz (HD), en sık uygulanan RRT yöntemidir. Böbrek Hastalıkları

Küresel Sonuçların İyileştirilmesi Klinik Pratik Rehberi - 2012 (KDIGO-Kidney Disease Improving Global Outcomes), sürekli renal replasman tedavisinde (SRRT) kanama riski yüksek olmayan ya da pıhtılaşma bozukluğu olmayan hastalarda dahi sitrat kullanımı için bir kontraendikasyon yoksa antikoagülasyon yöntemi olarak rejyonel sitrat antikoagülasyonu (RSA) yöntemini önermektedir (1).

Trisodyum sitrat yerine yaygın olarak sodyum sitrat veya sitrat isimleri kullanılır ve kimyasal formülü $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ şeklindedir. Hafif bir alkalın olup tuzlu ve hafif ekşi bir tada sahiptir. Sitrat, 1914'ten itibaren diyaliz ve aferez için kan ürünlerinde antikoagülan olarak kullanılmaktadır (81,82). Sitrat kandaki iyonize kalsiyumu şelatlayıp kalsiyuma bağımlı pıhtılaşma basamaklarını inhibe ederek antikoagülan görevi görür (83).

İskemi reperfüzyon sırasında sitratın kendisi de dahil olmak üzere sitrik asit döngüsü metabolitlerinin ortamda bulunmasının hücrelerin substrat defisitini sınırladığı ve mitokondriyal fonksiyonları düzenleyerek hasardan korumada etkili olduğu belirtilmiştir (84). Ayrıca sitratın inflamasyonu baskıladığı da gösterilmiştir (85).

RRT sırasında sıklıkla %4 trisodyum sitrat solüsyonu kullanılmaktadır (6). Sitrat uygulamasının sistemik antikoagülasyon etkisi olmayıp infüze edilen sitrat, SRRT ile yarı geçirgen zarlardan geçerek kaybedilir. Ayrıca hastanın kanı ile dilüe olarak karaciğer, böbrek ve kas hücrelerinde trikarboksilik asit döngüsü ile hızla temizlenmektedir (86).

Trisodyum sitrat vücutta sodyum yükünü artırabilir ve metabolize olduğunda 1 mol sitrattan 3 mol bikarbonat oluşmaktadır. Rejyonel sitrat antikoagülasyon (RSA) uygulaması esnasında hipo/hiperkalsemi, hipernatremi, hipomagnezemi, metabolik alkaloz ve metabolik asidoz görülebilir (87).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya T.C. Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı tarafından 29/01/2021 tarihinde, 2021/01 sayılı izin ile onay verildi. Çalışma, Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Araştırma Merkezi Deneysel Hayvan Laboratuvarında gerçekleştirildi. Biyokimyasal analizler Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Biyokimya Ana Bilim Dalı Merkez Laboratuvarında, histopatolojik incelemeler İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Prof. Dr. Süleyman Yalçın Şehir Hastanesi Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1 ÇALIŞMADA KULLANILAN HAYVANLAR VE ANESTEZİ

Çalışmamızda ağırlıkları 285-370 g arasında değişen toplam 24 tane sağlıklı ve erişkin Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Denekler sıcaklık 23 ± 2 °C, ortalama nem $55 \pm \%5$ olacak şekilde standart koşullarda ve 12 saatlik gündüz/gece siklusu uygulanarak standart kafeslerde barındırıldı. Tüm hayvanlara yiyecek ve suya serbest erişim hakkı verilerek tümü standart pellet yemi ile beslendi. Çalışma süresince herhangi bir yem ve su kısıtlamasına gidilmedi.

Sıçanlara genel anestezi sağlanması amacıyla ketamin hidroklorür (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) 50 mg/kg dozunda intraperitoneal (i.p.) ve ksilazin hidroklorid (Rompun®, Bayer Health Care AG, Leverkusen, Almanya) 15 mg/kg dozunda i.p. uygulandı. İşlem boyunca sıçanların spontan solunumları devam edecek şekilde anestezi derinliğini sabit tutmak için refleks yanıtla (pensetle ayaklara ağırlı uyaran verilmesi) bakılarak gerektiğinde ketamin (25 mg/kg) i.p. yoldan tekrarlandı.

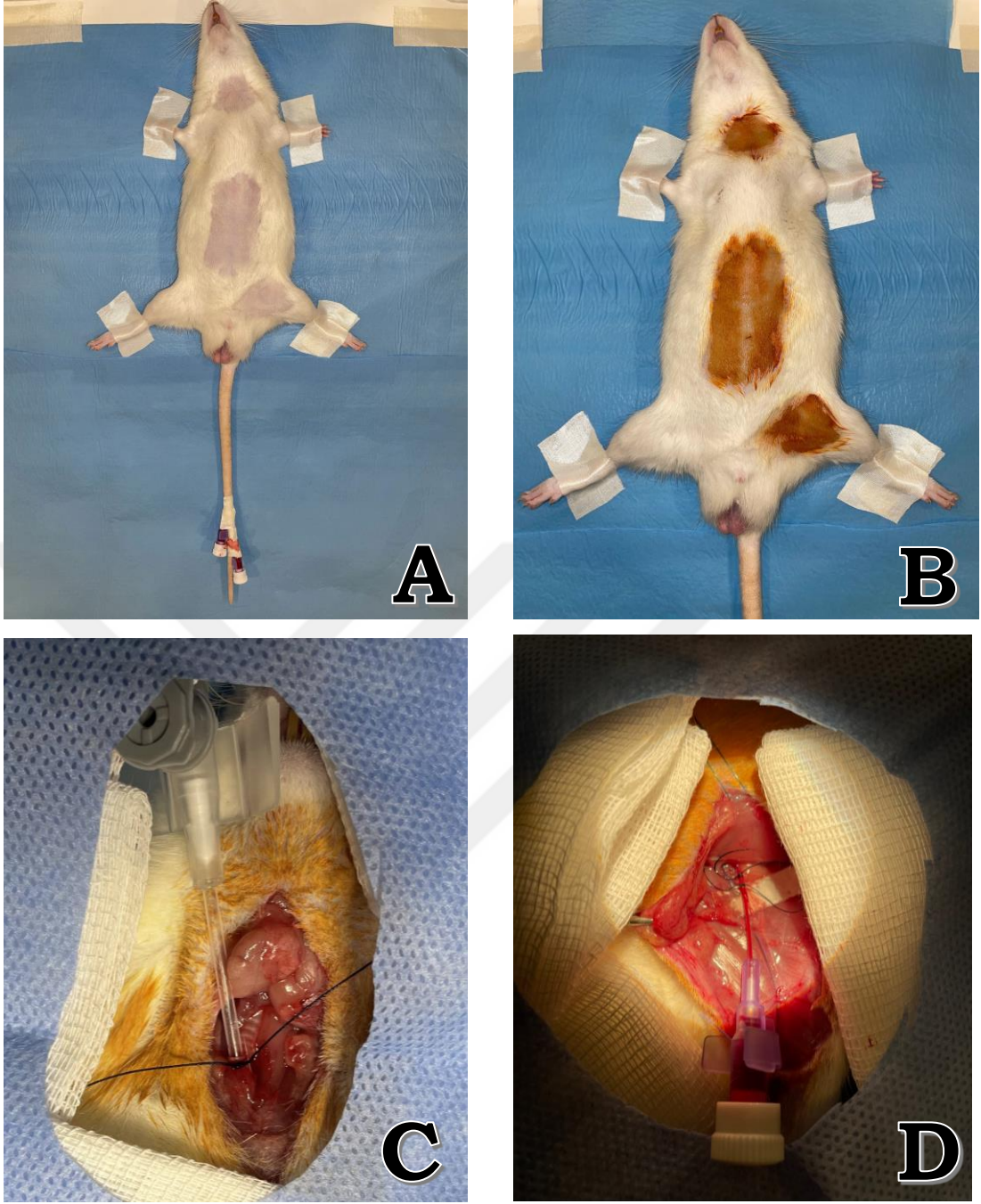
3.2 ÇALIŞMA GRUPLARI VE PROTOKOL

Sıçanlar laboratuvarında işlem öncesi hassas terazi ile tartılıp her birinin ağırlıkları kaydedildi. Tüm sıçanlar genel anestezi uygulandıktan sonra

ısıtıcıli operasyon masasına alınıp supin pozisyonda 4 ekstremitelerinden masaya sabitlendi. Çalışma süresince rektal ısıları ölçülerek 37-38 °C arasında sabit tutuldu. Tüm hayvanların servikal, abdominal ve femoral bölgeleri tıraş edilerek %10'luk povidon iyot çözeltisi (Poviderm®, Necm Kimya, İstanbul, Türkiye) ile temizlendi. Öncelikle servikal kesinin ardından kas ve fasyalar usulüne uygun şekilde geçildikten sonra trakea disseke edilip 16 Gauge i.v. kanül ile trakeostomi açıldı. Tidal volüm 8 ml/kg, solunum sayısı 80/dk., ekspirasyon sonu pozitif basınç (PEEP) 0 cmH₂O, FiO₂ %50 olacak şekilde Servo-I (Maquet®, Solna, İsveç) isimli cihaz ile volüm kontrol ventilasyon (VCV) modunda invaziv mekanik ventilasyon uygulandı. Sol femoral artere 26 Gauge i.v. kanül yerleştirildi ve monitörize edilerek invazif arter basınç takibi yapıldı. Kuru heparinli enjektöre 0,5 ml kan alınarak arter kan gazı RAPIDPoint® 500 Systems (Siemens Healthcare, Sudbury, İngiltere) cihazıyla ölçülüp bazal değerleri kaydedildi. Tüm gruplarda çalışma süresince 10 dakika aralıkla sistolik arteriyel basınç (SAB) değerleri, diyastolik arteriyel basınç değerleri (DAB), ortalama arteriyel basınç değerleri (OAB) ve kalp atım hızı (KAH) kaydedildi. OAB 50 mmHg altına düştüğü durumda 1 ml %0,9'luk izotonik sodyum klorür (NaCl) solüsyonu (Neofleks®, Türktıpsan, Ankara, Türkiye) i.v. uygulandı.

Tüm sıçanlardan işlem bitiminde böbrekleri çıkartılmadan arteriyel hattan 2 ml lityum heparinli tüplere kan alındı.

Tüm deneklerin işlem sonrasında bilateral böbrekleri çıkarılarak %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda fikse edildi. Çalışma bitiminde sıçanlar derin genel anestezi altında servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edildi.



Resim 3.1: A) Sıçanların tıraşlanmış hali B) Povidon iyot ile temizlik
C) Trakeostomi açılması D) Femoral Arter Kateterizasyonu

Sıçanlar işlem öncesinde kapalı zarf usulü ile seçilerek her grupta 6 sıçan olmak üzere 4 gruba ayrıldı:

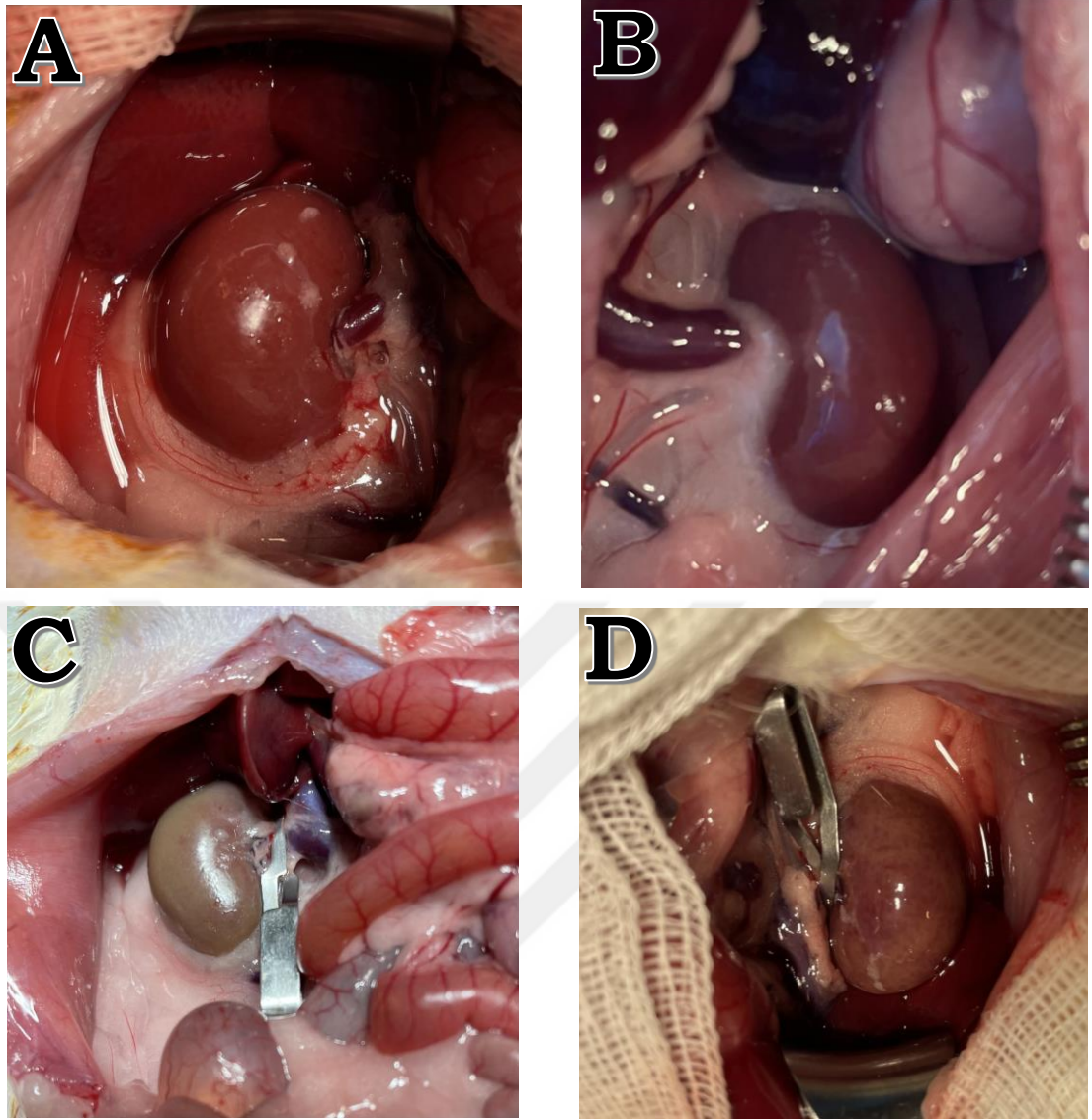
- 1-Sham grubu (Grup S, n=6)
- 2-İskemi-reperfüzyon grubu (Grup İR, n=6)
- 3-Sitrat grubu (Grup C, n=6)
- 4-İskemi-reperfüzyon + sitrat grubu (Grup İR+C, n=6)

3.2.1. Sham grubu (Grup S)

Sham operasyon grubundaki sıçanlara linea alba boyunca orta hattan uygun cerrahi yöntemle abdominal laparotomi uygulandıktan hemen sonra kan gaz parametreleri ile biyokimyasal analiz için arter hattından kan örneği alınıp böbrekleri çıkartıldı ve sıçanlar sakrifiye edildiler.

3.2.2. İskemi-reperfüzyon grubu (Grup İR)

İskemi-reperfüzyon grubuna trakeostomi açılıp femoral arter kateteri yerleştirildikten sonra laparotomi uygulandı. Bilateral böbrekler renal pediküllerinden atravmatik mikrovasküler klemp ile 40 dk. boyunca klemplendi. Çalışma süresince hemodinamik dengeyi bozmamak için kuyruk veninden %0,9 NaCl, 5ml/kg/saat dozunda i.v. infüzyon şeklinde uygulandı. İskemi sonrası klemppler kaldırılarak 60 dk. reperfüze edildi. Başlangıçta, iskemi sonrasında, reperfüzyonun 30. ve 60. dakikalarında arter hattından kan örneği alınarak kan gaz parametreleri çalışıldı. Çalışma sonunda biyokimyasal analiz için kan örneği alınıp böbrekleri çıkartıldı ve sıçanlar sakrifiye edildiler.



Resim 3.2: A) Sağ Böbrek ve Renal Arter B) Sol Böbrek ve Renal Arter
C) Sağ Böbreğin Klemplenmesi D) Sol Böbreğin Klemplenmesi

3.2.3. Sitrata Grubu (Grup C)

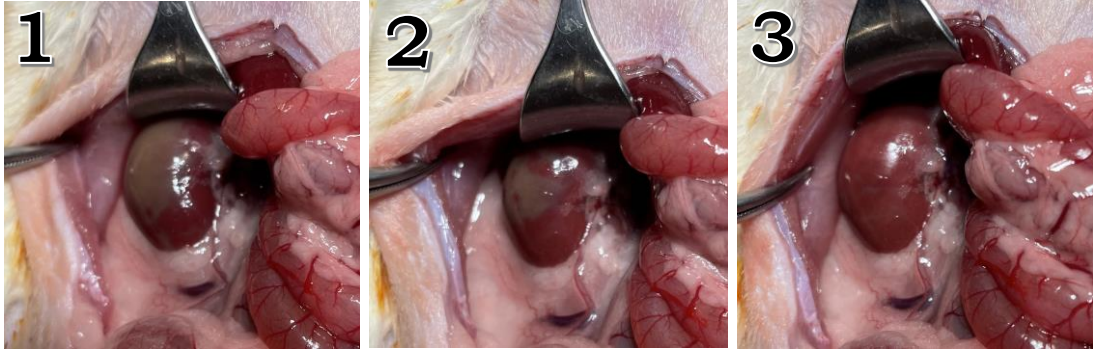
Sitrata grubuna trakeostomi açılıp femoral arter kateteri yerleştirildikten sonra sağ ve sol kuyruk lateral venlerine 26 Gauge çapında kanül ile damar yolu açıldı. Bir taraftaki venöz yoldan 90 dk. süresince %4'lük trisodyum sitrat (Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Almanya) solüsyonundan (136 mmol/L trisodyum sitrat içermektedir) 1 mmol/kg/saat dozunda sodyum sitrat infüzyonu uygulandı. Diğer kuyruk veninden ise %10'luk kalsiyum glukonat (Calcium Picken %10, Adeka İlaç, İstanbul, Türkiye) 2 ml/kg/saat dozunda 90 dk. süresince i.v. infüzyon şeklinde uygulandı. Çalışma

başlangıcında ve infüzyonların sonunda arter hattından alınan kan örneğinden kan gazı parametreleri ölçüldü. Biyokimyasal analiz için çalışma sonunda arter hattından 2 ml kan örneği alındı. Sıçanlara laparotomi yapılarak her iki böbrek eksize edildi ve sıçanlar sakrifiye edildi.

3.2.4. İskemi-Reperfüzyon + Sitrat Grubu (Grup İR+C)

İskemi-reperfüzyon + sitrat grubuna trakeostomi açılıp femoral arter kateteri yerleştirildikten sonra sağ ve sol kuyruk lateral venlere 26 Gauge çapında kanül ile i.v. damar yolu açıldı. Bir taraftaki venöz yoldan 60 dakika boyunca %4'lük sodyum sitrat solüsyonundan 1 mmol/kg/saat dozunda, diğer kuyruk veninden ise %10'luk kalsiyum glukonat 2 ml/kg/saat dozunda i.v. infüzyon şeklinde uygulandı. Ardından infüzyonlar durdurulup orta hattan laparotomi uygulanarak bilateral böbrekler renal pediküllerinden atravmatik mikrovasküler klemp ile 40 dk. boyunca klemplendi. İskemi sonrası böbrek pediküllerinden klempiler kaldırıldı ve böbrekler 60 dk. boyunca reperfüze edildi. Hemodinamik dengeyi bozmamak ve evaporasyonu engellemek için reperfüzyon süresince batındaki kesi hattı iplik ile sütüre edildi. Reperfüzyonun ilk 30 dakikasında sodyum sitrat ve kalsiyum infüzyonları aynı dozlarda tekrar uygulandı. Başlangıçta, infüzyonlar sonrasında, iskemi sonrasında, reperfüzyonun 30. ve 60. dakikalarında arter hattından kan örneği alınarak kan gazı değerleri incelendi. Çalışma sonunda biyokimyasal analiz için sıçanlardan 2 ml kan örneği alındı ve her iki böbrek çıkartılıp sıçanlar sakrifiye edildi.

Çalışma süresinde ratlardan iki tanesi arter hattının kanülasyonu esnasında kanamaya bağlı eksitus oldu. Bu ratlar deney dışı bırakılarak sağlıklı ve aynı koşullardaki diğer iki rat ile değiştirilip deney tekrarlandı.



Resim 3.3: Sağ Böbreğin Reperfüzyonunun İlk Dakikalarındaki Makroskopik Değişimini Gösteren Resimler (1'den 3'e doğru)



Resim 3.4: Reperfüzyon Döneminde Batın Sütür ile Kapatılmış Rat

3.3 BÖBREK İSKEMİ-REPERFÜZYON MODELİ OLUŞTURULMASI

Sol ve sağ böbrek total iskemisi atravmatik mikrovasküler klempler ile renal pediküller sıkıştırılarak oluşturuldu. Böbreklerde pulsasyon görülmeyip böbreklerin soluklaşmasıyla yeterli oklüzyon düzeyi doğrulandı. İskemi süresi tamamlandıktan sonra atravmatik mikrovasküler klempler pediküllerden serbestleştirilerek reperfüzyon sağlandı. Böbreklerdeki pulsasyonun başladığı ve soluklaşmanın düzeldiği gözlemlendi.

3.4 HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Diseke edilen nefrektomi materyali %10'luk nötral formalin solüsyonunda 24 saat tespit (fiksasyon) edildi. Makroskopik incelemede lateral yüzeyden hiler bölgeye doğru böbrekler ön ve arka olmak üzere iki yarım olacak şekilde kesildi. Her spesimenden korteks ve medullayı içeren 3 mm kalınlığında sagittal kesitler alındı. Kesitler kodlanan kasetlere yerleştirildi. Dokular, kapalı sistem otomatik doku takibi cihazında (Thermo Scientific™ Excelsior™ ES Tissue Processor, Loughborough, İngiltere) alkol ile dehidratasyon (suyunu alma), ksilol ile şeffaflandırma (saydamlaştırma) ve parafin ile parafinizasyon (sertleştirme) aşamalarından geçerek kesitlerin alınabilmesi için gerekli sertliğe ulaştı. Daha sonra doku gömme cihazında (Leica EG 1150 C, Nussloch, Almanya) parafinle infiltre edilmiş dokular dikdörtgen prizma biçimindeki kalıplara konularak üzerlerine ısıtılmış parafin döküldü ve soğutularak bloklara gömüldü. Mikrotomda parafin bloklardan 4 µm kalınlığında doku kesitleri alınarak lamalar hazırlandı ve 60-80 °C etüvde 15-20 dk. deparafinize edildi. Lamlar, otomatik lam boyama cihazında (Leica ST 5020, Wetzlar, Almanya) hematoksilin-eosin (H&E) boyası ile boyandı ve otomatik kapama cihazında (Leica CV 5030, Wetzlar, Almanya) lamel ile kapandı. Preparatlara ait tüm kesitler histomorfolojik açıdan ışık mikroskobunda (Olympus Bx51, Tokyo, Japonya) tek bir patoloji uzmanı tarafından kör olarak incelendi ve görüntü alındı.

Histomorfolojik incelemede; hasar bulgularından intersitisyel alanlarda kapiller vazodilatasyon/ konjesyon, tübüllerde dilatasyon ve cast formasyonu, tübül epitelinde fırçamsı kenar kaybı, vakuolizasyon, epitelin lümene dökülmesi, intersitisyel yapısal değişiklik olarak inflamasyon ile fibrozis varlığı ve glomerüllerde morfolojik değişiklikler değerlendirildi. Hasar

skorlaması semî kantitatif olarak yaygınlığına göre yok (incelenen alanda hiç değişiklik olmaması), hafif (incelenen alanda %50 den az değişiklik) ve orta-ağır (incelenen alanda %50 ve daha fazla değişiklik) olacak şekilde 0'dan 2'ye kadar derecelendirildi. Şu şekilde skorlandı:

Yok: 0 puan

Hafif: 1 puan

Orta-ağır: 2 puan

3.5 BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

3.5.1. Serum Örneklerinin Hazırlanması

Tüm sıçanlardan çalışma bitiminde böbrekleri çıkartılmadan arteriyel hattan lityum heparinli tüplere 2 ml kan alındı. Santrifüj cihazında (Nüve NF 800R, Ankara, Türkiye) 3000 rpm. hızla 10 dk. santrifüj edildi. Serum kısımları ayrıştırılarak eppendorf tüplerine alındı ve -80°C'de analiz zamanına kadar muhafaza edildi. Çalışma için yeterli sıçan sayısı sağlandıktan sonra numuneler aynı günde ve eş zamanlı çalışıldı.

3.5.2. Üre, Kreatin Analizi

Serumlar oda ısısında çözündürüldükten sonra üre ve kreatinin düzeyleri ticari kit kullanılarak spektrofotometrik olarak Architect C8000 (Abbott, Wiesbaden, Almanya) ile ölçüldü.

3.5.3. TAS-TOS-OSİ Analizi

Muhafaza edilen serum örnekleri oda ısısında çözündürüldükten sonra total antioksidan seviye (TAS) ölçümünde, TAS test kiti (Rel Assay Diagnostic, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak spektrofotometrik olarak Architect C8000 (Abbott, Wiesbaden, Almanya) ile ölçüldü. Yöntem, numunedeki antioksidanların koyu mavi-yeşil renkli ABTS [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)] radikalini renksiz ABTS formuna indirgemesinin spektrofotometrik yöntemle absorban değişiminin ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Test kiti, geleneksel olarak bir E vitamini analogu olan Trolox Eşdeğeri olarak adlandırılan stabil bir antioksidan standart solüsyonla kalibre edilir ve birimi mmol Trolox Eqv/L'dir (63).

Total oksidan seviye ölçümünde, TOS test kiti (Rel Assay Diagnostic, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak spektrofotometrik olarak Architect C8000

(Abbott, Wiesbaden, Almanya) ile ölçüldü. Yöntem, numunedeki oksidanların ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonlara oksitlemesine ve oluşan ferrik iyonların asidik ortamda kromojen madde ile renk oluşturması prensibine dayanmaktadır. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan toplam oksidan molekül seviyesi ile ilişkilidir. Test kiti, hidrojen peroksit (H_2O_2) ile kalibre edilir ve birimi $\mu\text{mol } H_2O_2 \text{ Eqv/L}$ 'dir (62). Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) değeri TOS değerinin TAS değerine oranlanmasıyla hesaplanan bir indekstir. Öncelikle TAS değerleri mmol/L 'ye çevrildi ve sonuç Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi.

$$\text{OSİ} = \text{TOS (mmol } H_2O_2 \text{ Eqv/L)} / \text{TAS (mmol Trolox Eqv/L)}$$

3.5.4. T-tiyol, N-tiyol, Disülfid Analizi

Tiyol ve disülfid seviyeleri Erel ve Neselioğlu tarafından tariflenen spektrofotometrik yöntemle Architect C8000 (Abbott, Wiesbaden, Almanya) ile tespit edildi. Öncelikle native tiyol (N-tiyol) seviyelerini ölçmek için serum örneği 5, 5'-ditiobis-2- nitrobenzoik asit (DTNB) ile reaksiyona sokulduktan sonra N-tiyol miktarı belirlendi. Ardından total tiyol (T-tiyol) seviyesini belirlemek için serumdaki disülfid bağları sodyum borohidür ($NaBH_4$) ile birlikte serbest fonksiyonel tiyol grupları oluşturmak üzere reaksiyona sokularak indirgendi. Kullanılmayan $NaBH_4$ ise 5,5'-ditiyobis- (2-nitrobenzoik) asidin (DTNB) indirgenmesini önlemek için formaldehit ile tüketilerek çıkarıldı. İndirgenmiş ve N-tiyol grupları dahil olmak üzere tüm tiyol grupları DTNB ile reaksiyon sonrasında tespit edildi. T-tiyoller ve N-tiyoller arasındaki farkın yarısı ile dinamik disülfid miktarı belirlendi (68).

3.5.5. Paraoksonaz-1 (PON-1) Analizi

PON-1 seviyesi paraoksonaz test kiti (Rel Assay, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak Architect C8000 (Abbott, Wiesbaden, Almanya) ile ölçüldü. Bu yöntem substrat olan paraoksonun enzimatik hidrolizi ile oluşan serbest p-nitrofenolün 37°C ve 412 nanometre dalga boyunda oluşturduğu absorbansın spektrofotometrik ölçüm esasına dayanmaktadır. PON-1 enzim aktivitesi birimi ünite/litre (U/L) olarak ifade edilmiştir (88).

3.5.6. İskemi Modifiye Albümin (İMA) Analizi

İskemi modifiye albümin seviyesi Bar-Or ve ark. tarafından tanımlanan spektrofotometrik yöntemle gerçekleştirilen albümin kobalt bağlama testi (ACB) ile ölçüldü. Architect C8000 (Abbott, Wiesbaden, Almanya) cihazı kullanıldı. ACB testi ile bir numunedeki albüminin kobaltı bağlama kapasitesi belirlenebilmektedir. Seruma kobaltın bilinen miktarı eklendi ve albümine bağlanmayan kobaltın, ditiotreitol (DTT) ile bağlanarak spektrofotometrede 470 nm. dalga boyunda absorbanası ölçüldü. Elde edilen değer absorbanas ünitesi (ABSU) olarak kaydedildi (89).

3.6 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Kategorik değişkenler sayı (yüzde) olarak, sürekli değişkenler ise ortalama $\pm$ standart sapma (Ort. $\pm$ SS) olarak sunuldu. Bağımsız iki grup için sürekli değişkenler Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. İki'den fazla sayıdaki bağımsız dört grupta sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Post-hoc analizlerde (çoklu karşılaştırmalar) Dunn testi kullanıldı ve p değerleri Holm yöntemine göre düzeltildi. Bağımlı gruplarda sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında; grupta tekrarlayan iki ölçüm varsa Wilcoxon işaretli sıralar testi, ikiden fazla sayıda ölçüm varsa da Friedman testi kullanıldı. Kategorik değişkenler Pearson ki-kare testi ile karşılaştırıldı. İki yönlü p değerlerinin 0.05'ten küçük olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versiyon 20 (SPSS Inc.; Chicago, IL, USA) ile yapıldı.

BULGULAR

Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C'deki ratların ağırlıklarının ve başlangıçtaki ortalama arter basıncı, kalp atım hızı ve kan gazı değerlerinin karşılaştırılması Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Gruplardaki ratların başlangıçtaki kalp atım hızları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p=0.007$). Dört grup arasında, başlangıçtaki parsiyel oksijen basıncı değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p=0.011$). Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C'nin başlangıçtaki biyokimyasal değerlerinin karşılaştırılmasında yalnızca glukoz ($p=0.024$) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır.

Tablo 4.1: Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C'deki ratların ağırlıklarının ve başlangıçtaki ortalama arter basıncı, kalp atım hızı ve arter kan gazı değerlerinin karşılaştırılması

	Grup S, n=6	Grup İR, n=6	Grup C, n=6	Grup İR+C, n=6	αp
Ağırlık (g)	306±13.1	342±32.8	339±21.9	321±19.3	0.073
OAB (mmHg)	99.2±5.23	108±13.2	114±7.06	112±10.7	0.066
KAH (Atım/dk)	114±12.5	142±6.9	145±7.83	128±18.3	0.007*
pH	7.37±0.04	7.44±0.05	7.39±0.05	7.35±0.03	0.055
pO ₂ (mmHg)	109±22.1	248±23.4	197±60.3	174±71	0.011*
pCO ₂ (mmHg)	36.9±2.42	33.3±4.13	33.9±1.76	35.3±3.78	0.303
SO ₂ (%)	97.3±1.37	98.7±1.03	97.3±1.37	97.3±1.63	0.256
Hemoglobin (g/dl)	15.0±0.75	14.6±0.72	14.7±1.46	14.6±0.5	0.647
Hematokrit (%)	44.3±2.07	43.3±2.16	43.5±4.32	43.3±1.86	0.793
Na (mmol/L)	144±5.87	139±3.03	140±2.48	141±4.55	0.4
Cl (mmol/L)	108±4.64	112±3.27	112±3.76	115±3.88	0.102
K (mmol/L)	3.83±0.5	3.77±0.42	3.85±0.29	4.45±0.4	0.077
Ca (mmol/L)	1.30±0.17	1.37±0.21	1.25±0.18	1.28±0.14	0.62
Laktat (mmol/L)	1.38±0.4	1.28 ±0.41	1.42±0.44	1.32±0.51	0.799
Glukoz (mg/dl)	129±39	176±23.9	174±24.2	144±20.7	0.024*
HCO ₃ (mmol/L)	24.1±3.31	20.2±2.09	24.3±3.04	24.7±2.37	0.061
BE (mmol/L)	0.70±2.52	-2.57±1.05	-1.72±1.16	-2.20±0.84	0.104

OAB: Ortalama arteriyel basınç, KAH: Kalp atım hızı

*: $p<0.05$, α : Kruskal-Wallis Testi

Grup S dışındaki gruplardan çalışma süresince alınan kan gazlarının grup içerisinde diğer kan gazı değerleriyle karşılaştırıldığı tablolar (Tablo 4.2, Tablo 4.3, Tablo 4.4) aşağıda gösterilmektedir.

Tablo 4.2: Grup İR'in başlangıçtaki, iskemi sonrası 40.dk., reperfüzyon 70.dk. ve reperfüzyon 100.dk. alınan kan gazı parametrelerinin karşılaştırılması

	Başlangıç	İskemi sonrası 40.dk	Reperfüzyon 70.dk	Reperfüzyon 100.dk	^b p
pH	7.44±0.05	7.42±0.07	7.40±0.08	7.39±0.06	0.44
pO ₂ (mmHg)	248±23.4	223±39.7	225±53.2	235±57.3	0.39
pCO ₂ (mmHg)	33.3±4.13	32.9±1.81	31.1±3.63	32.2±4.19	0.42
SO ₂ (%)	98.7±1.03	98.0±1.55	98.0±1.26	98.2±1.33	0.60
Hemoglobin (g/dl)	14.6±0.72	14.4±0.49	14.3±1.54	14.4±1.19	0.55
Hematokrit (%)	43.3±2.16	43.2±1.47	43.2±3.82	42.7±3.67	0.68
Na (mmol/L)	139±3.03	139±1.97	140±2.59	140±2.86	0.23
Cl (mmol/L)	112±3.27	113±3.31	117±2.34	119±1.17	0.02*
K (mmol/L)	3.77±0.42	4.23±0.33	4.00±0.23	3.87±0.52	0.09
Ca (mmol/L)	1.37±0.21	1.25 ±0.15	1.10 ±0.07	1.12 ±0.07	0.03*
Laktat (mmol/L)	1.28±0.41	1.65±0.16	1.75±0.27	1.67±0.47	0.48
Glukoz (mg/dl)	176±23.9	193±12.5	193±9.70	197±12.2	0.41
HCO ₃ (mmol/L)	20.2±2.09	19.5±1.40	19.7±1.53	19.4±1.85	0.51
BE (mmol/L)	-2.57±1.05	-3.12 ±0.58	-2.97±0.62	-3.28±0.31	0.26

*: p<0.05, **b**: Friedman Testi

Grup İR'nin başlangıçtaki, iskemi sonrası 40.dakikadaki, reperfüzyon 70.dakikadaki ve reperfüzyon 100.dakikadaki klor ölçümleri (p=0.02) ve kalsiyum (p=0.03) ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

Tablo 4.3: Grup C'nin başlangıçtaki ve sitrat infüzyon 90.dakikadaki kan gazı parametrelerinin karşılaştırılması

	Başlangıç	Sitrat infüzyon 90.dk	p
pH	7.39±0.05	7.42±0.10	0.40
pO ₂ (mmHg)	197±60.3	180±72.7	0.44
pCO ₂ (mmHg)	33.9±1.76	34.2±5.11	0.67
SO ₂ (%)	97.3±1.37	97.7±0.82	0.57
Hemoglobin (g/dl)	14.7±1.46	13.8±1.71	0.07
Hematokrit (%)	43.5±4.32	41±5.02	0.09
Na (mmol/L)	140±2.48	140±1.33	0.79
Cl (mmol/L)	112±3.76	112±4.32	0.53
K (mmol/L)	3.85±0.29	4.22±0.53	0.21
Ca (mmol/L)	1.25±0.18	1.12± 0.11	0.03*
Laktat (mmol/L)	1.42±0.44	1.62±0.70	0.21
Glukoz (mg/dl)	174±24.2	192±18	0.44
HCO ₃ (mmol/L)	24.3±3.04	20.8±1.74	0.04*
BE (mmol/L)	-1.72±1.16	-2.5±0.64	0.06

*: p<0.05, c: Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi

Grup C'nin başlangıçtaki HCO₃ düzeyi ile sitrat infüzyonu 90.dakikadaki HCO₃ düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (p=0.04). Grup C'nin başlangıçtaki Ca düzeyi ile sitrat infüzyonu 90.dakikadaki Ca düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (p=0.03).

Tablo 4.4: Grup İR+C'nin başlangıçtaki, sitrat infüzyonu sonrası 60.dk, iskemi sonrası 100.dk ve reperfüzyon 130.dk kan gazı parametrelerinin karşılaştırılması

	Başlangıç	Sitrat İnfüzyonu sonrası 60.dk	İskemi sonrası 100.dk	Reperfüzyon 130.dk	Reperfüzyon 160.dk	^b p
pH	7.35±0.03	7.36±0.05	7.37±0.05	7.37±0.07	7.38±0.07	0.85
pO ₂ (mmHg)	174.3±71	173.3±53.2	191±33.6	213.5±32.7	218.5±37.0	0.53
pCO ₂ (mmHg)	35.3±3.78	36.1±3.53	36.1±5.29	35.1±4.63	34.0±3.52	0.48
SO ₂ (%)	97.3±1.63	97.5±0.84	98.2±0.98	97.7±0.82	98.3±1.21	0.22
Hemoglobin (g/dl)	14.6±0.5	14.7±0.82	14.2±1.60	14.1±1.28	13.8±0.92	0.40
Hematokrit (%)	43.3±1.86	44.0±2.28	42.5±4.14	41.7±3.33	41.2±2.93	0.27
Na (mmol/L)	141.3±4.55	141.2±4.49	139.7±4.13	139.7±5.24	140±4.15	0.77
Cl (mmol/L)	114.7±3.88	111.2±3.66	115.8±2.79	117.3±3.67	118.5±2.51	0.009*
K (mmol/L)	4.45±0.4	4.50±0.37	4.48±0.47	4.47±0.58	4.53±0.36	0.96
Ca (mmol/L)	1.28±0.14	1.15±0.07	1.18±0.08	1.09±0.05	1.07±0.02	0.002*
Laktat (mmol/L)	1.32±0.51	1.73±0.63	2.03±0.74	2.14±0.49	2.16±0.51	0.01*
Glukoz (mg/dl)	144.5±20.7	173.7±24.9	183±16.6	188.2±8.45	188.2± 10.9	0.008*
HCO ₃ (mmol/L)	24.7±2.37	23.5±1.94	20.7±1.08	20.4±1.09	20±0.95	<0.001*
BE (mmol/L)	-2.20±0.84	-2.65±1.37	-3.53±0.93	-3.30±1.00	-3.38±0.68	0.004*

*: p<0.05, **b**: Friedman Testi

Grup İR+C'nin başlangıçtaki, sitrat infüzyonu sonrası 60.dakikadaki, iskemi sonrası 100.dakikadaki, reperfüzyon 130.dakika ve reperfüzyon 160.dakikadaki Cl değerleri arasında ($p=0.009$), Ca değerleri arasında ($p=0.002$), laktat değerleri arasında ($p=0.01$), glukoz değerleri arasında ($p=0.008$), HCO_3 değerleri arasında ($p<0.001$) ve BE değerleri arasında ($p=0.004$) istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

Grupların çalışma sonunda alınan kan örneklerinden kreatin ve üre değerlerinin karşılaştırılması Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

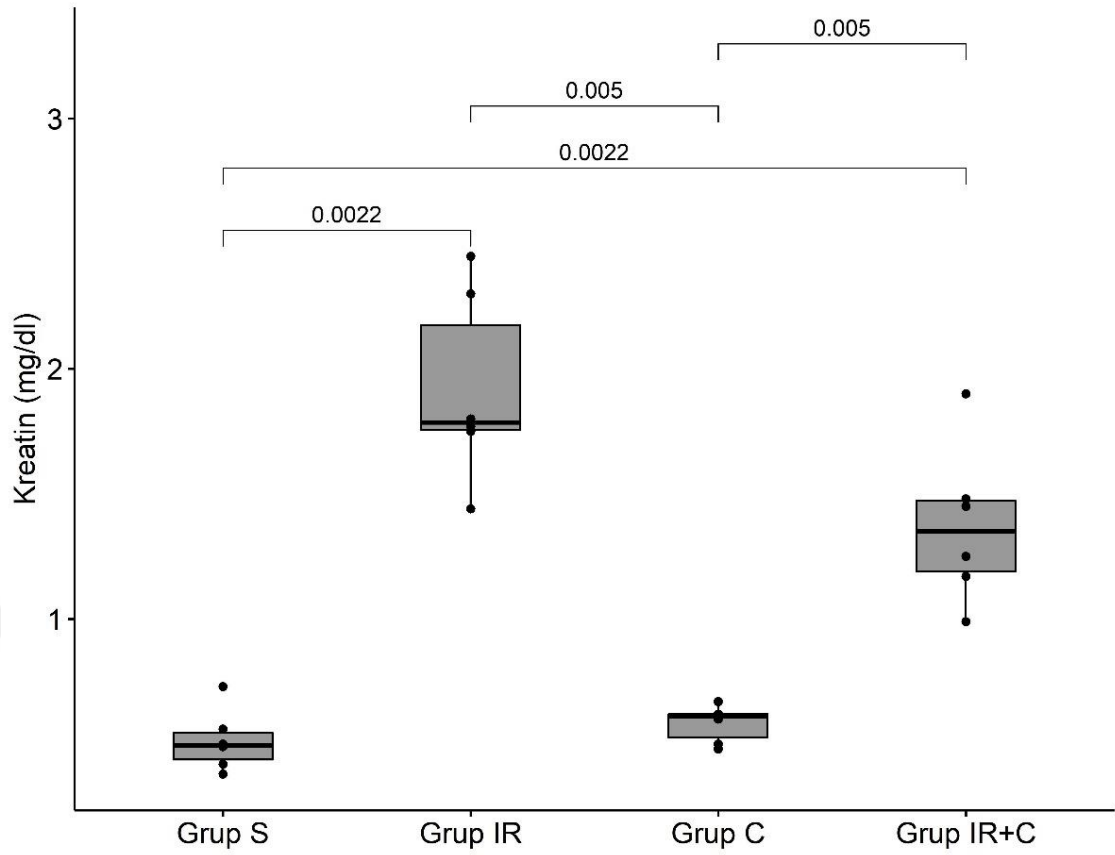
Tablo 4.5: Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C'deki ratların böbrek fonksiyon testlerinin karşılaştırılması

	Grup S, n=6	Grup İR, n=6	Grup C, n=6	Grup İR+C, n=6	^a p
Kreatin (mg/dl)	0.51±0.12	1.92±0.38	0.58±0.07	1.37±0.32	<0.001*
Üre (mg/dl)	48.2±5.78	181±38.2	55.3±9.65	144±33.9	<0.001*

*: $p<0.05$, **a**: Kruskal-Wallis Testi

Dört çalışma grubunun kreatin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0.001$), (Tablo 4.5). Post-hoc testlerde Grup S ile Grup İR, Grup S ile Grup İR+C ve Grup İR ile Grup C arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p\leq 0.05$).

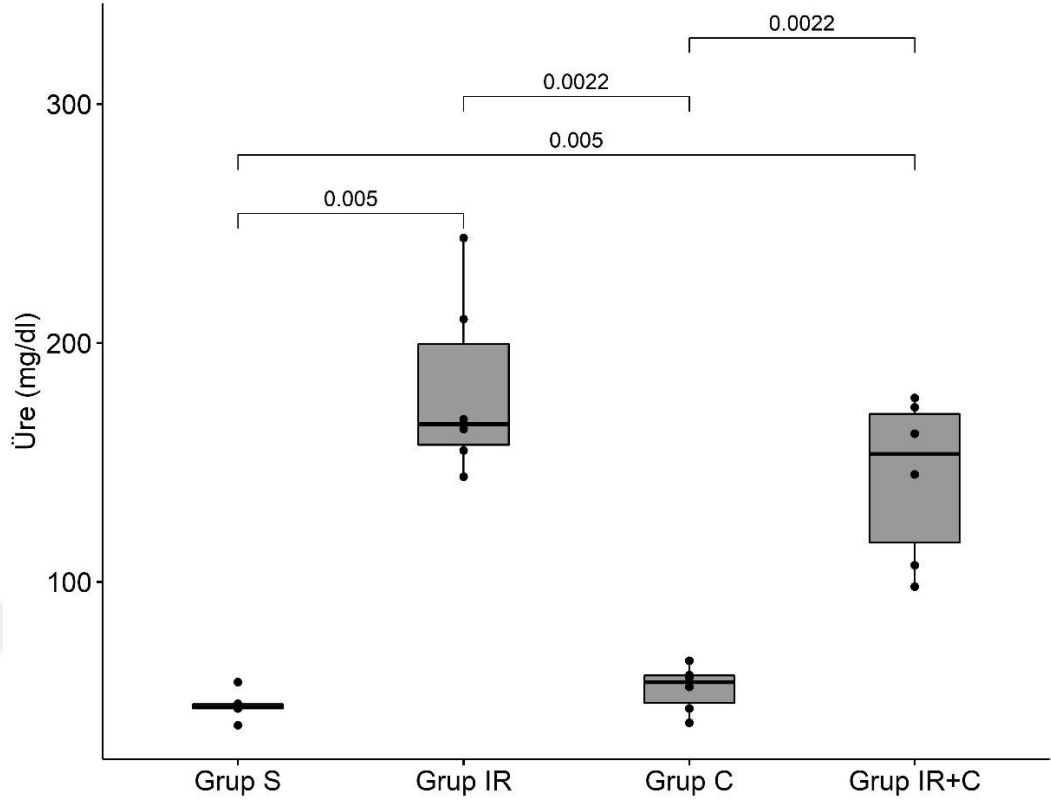
Kreatin düzeylerinin iki çalışma grubu arasındaki karşılaştırmalarında Grup S (ort±SS: 0.51±0.12) ile Grup İR (ort±SS: 1.92±0.38) arasında ($p=0.0022$), Grup S (ort±SS: 0.51±0.12) ile Grup İR+C (ort±SS: 1.37±0.32) arasında ($p=0.0022$), Grup İR (ort±SS: 1.92±0.38) ile Grup C (ort±SS: 0.58±0.07) arasında ($p=0.037$) ve Grup C (ort±SS: 0.58±0.07) ile Grup İR+C (ort±SS: 1.37±0.32) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Şekil 4.1). Diğer ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark yoktur.



Şekil 4.1: Kreatin düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U Testi)

Dört çalışma grubunun üre düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.02$) fark vardır (Tablo 4.5). Post-hoc testlerde Grup S ile Grup İR, Grup S ile Grup İR+C ve Grup İR ile Grup C arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p \leq 0.05$).

Üre düzeylerinin iki çalışma grubu arasındaki karşılaştırmalarında Grup S (ort $\pm$ SS: 48.2 $\pm$ 5.78) ile Grup İR (ort $\pm$ SS: 181 $\pm$ 38.2) arasında ($p=0.005$), Grup S (ort $\pm$ SS: 48.2 $\pm$ 5.78) ile Grup İR+C (ort $\pm$ SS: 144 $\pm$ 33.9) arasında ($p=0.005$), Grup İR (ort $\pm$ SS: 181 $\pm$ 38.2) ile Grup C (ort $\pm$ SS: 55.3 $\pm$ 9.65) arasında ($p=0.0022$) ve Grup C (ort $\pm$ SS: 55.3 $\pm$ 9.65) ile Grup İR+C (ort $\pm$ SS: 144 $\pm$ 33.9) arasında ($p=0.0022$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Şekil 4.2). Diğer ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark yoktur.



Şekil 4.2: Üre düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U Testi)

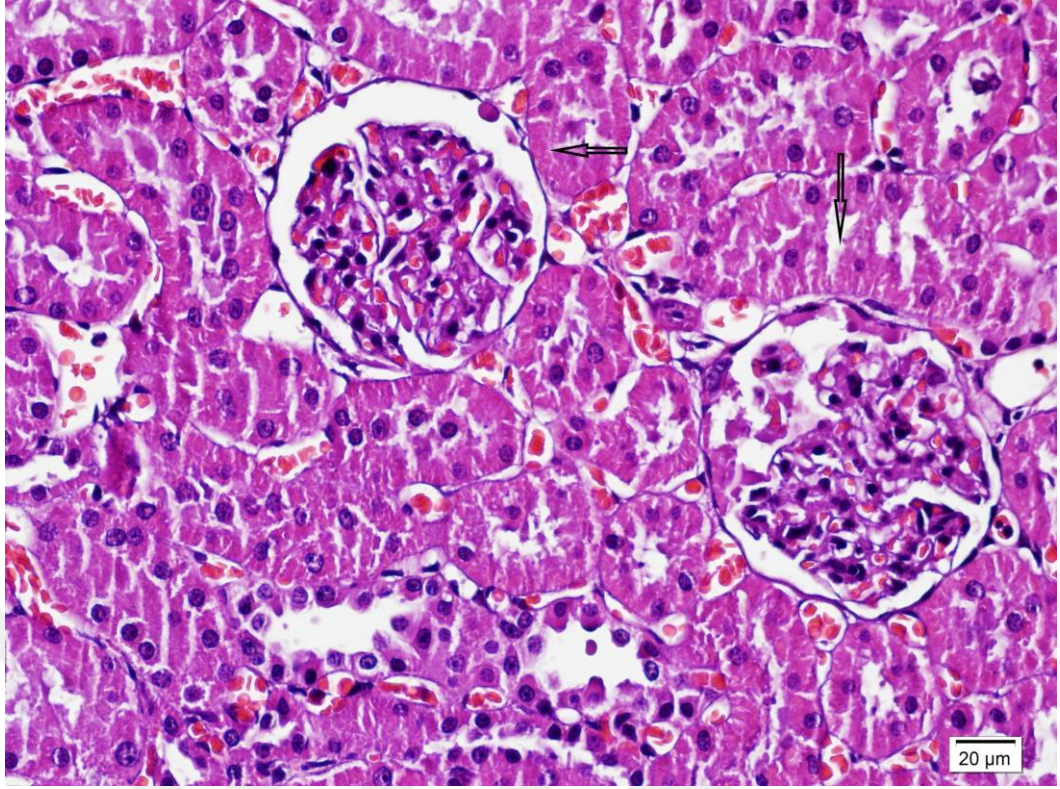
4.1 HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Böbrek spesmenlerinin histopatolojik değerlendirmesinde ratların %50'sinde (n=12) kapiller vazodilatasyon/konjesyon gözlenmiş, %29,2'sinde (n=7) tübüler fırçamsı kenar kaybı gözlemlenmiş, %70,8'inde (n=17) tübüler vazodilatasyon gözlemlenmiş, %12,5'unda (n=3) renal korpuskül morfolojisinde şişme ya da büzüşme gözlemlenmiş, %37,5'inde (n=9) tübüler vakualizasyon izlenmiş, %33,3'ünde (n=8) ise tübüler epitelin lümene dökülmesi izlenmiştir. Histopatolojik değişimlerin gruplara göre dağılımı Tablo 4.6'daki gibidir:

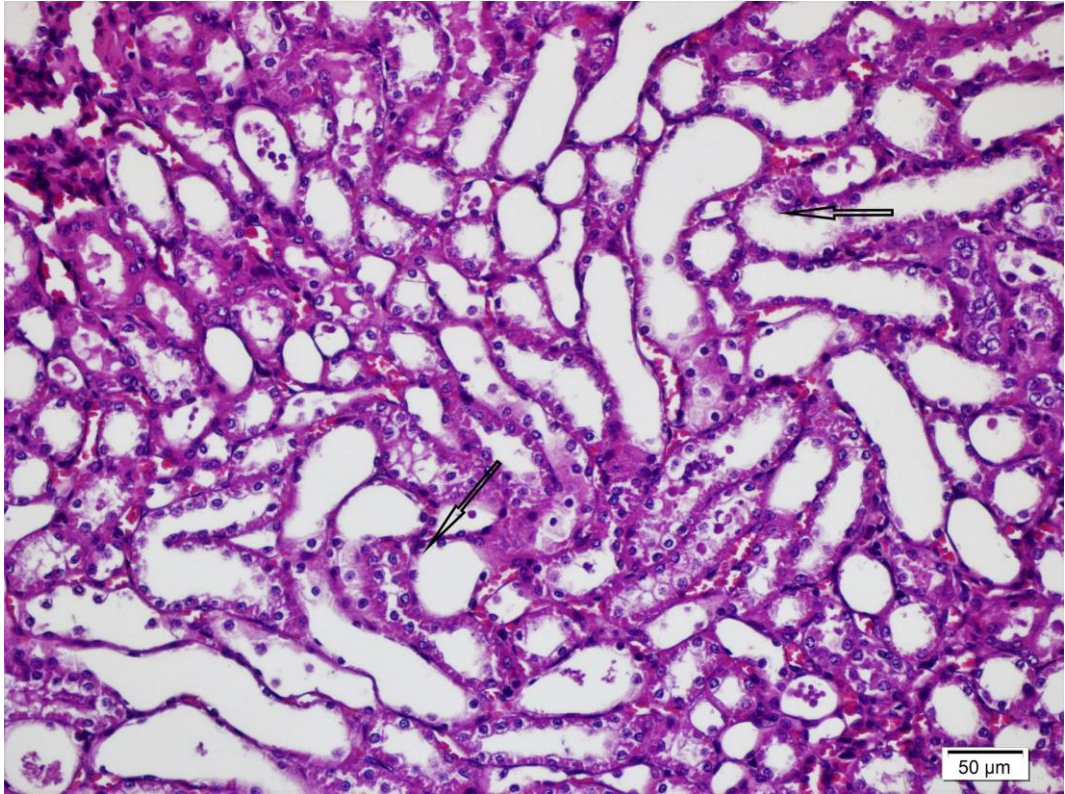
Tablo 4.6: Histopatolojik değişimlerin çalışma gruplarındaki dağılımı

	Grup S	Grup İR	Grup C	Grup İR+C	<i>d</i> p
Kapiller vazodilatasyon/konjesyon, n (%):					0.429
Yok	4 (66.7)	3 (50)	1 (16.7)	4 (66.7)	
Var	2 (33.3)	3 (50)	5 (83.3)	2 (33.3)	
Tübüler fırçamsı kenar kaybı, n (%):					0.011*
Yok	6 (100)	1 (16.7)	5 (83.3)	5 (83.3)	
Var	0 (0)	5 (83.3)	1 (16.7)	1 (16.7)	
Tübüler vazodilatasyon, n (%):					0.198
Yok	3 (50)	1 (16.7)	3 (50)	0 (0)	
Var	3 (50)	5 (83.3)	3 (50)	6 (100)	
Renal korpusköl morfolojisinde şişme/büzüşme, n (%):					0.04*
Yok	6 (100)	3 (50)	6 (100)	6 (100)	
Var	0 (0)	3 (50)	0 (0)	0 (0)	
Tübüler vakuolizasyon, n (%):					<0.001*
Yok	6 (100)	0 (0)	6 (100)	3 (50)	
Var	0 (0)	6 (100)	0 (0)	3 (50)	
Tübüler epitelin lümene dökölmesi, n (%):					<0.001*
Yok	6 (100)	0 (0)	6 (100)	4 (66.7)	
Var	0 (0)	6 (100)	0 (0)	2 (33.3)	

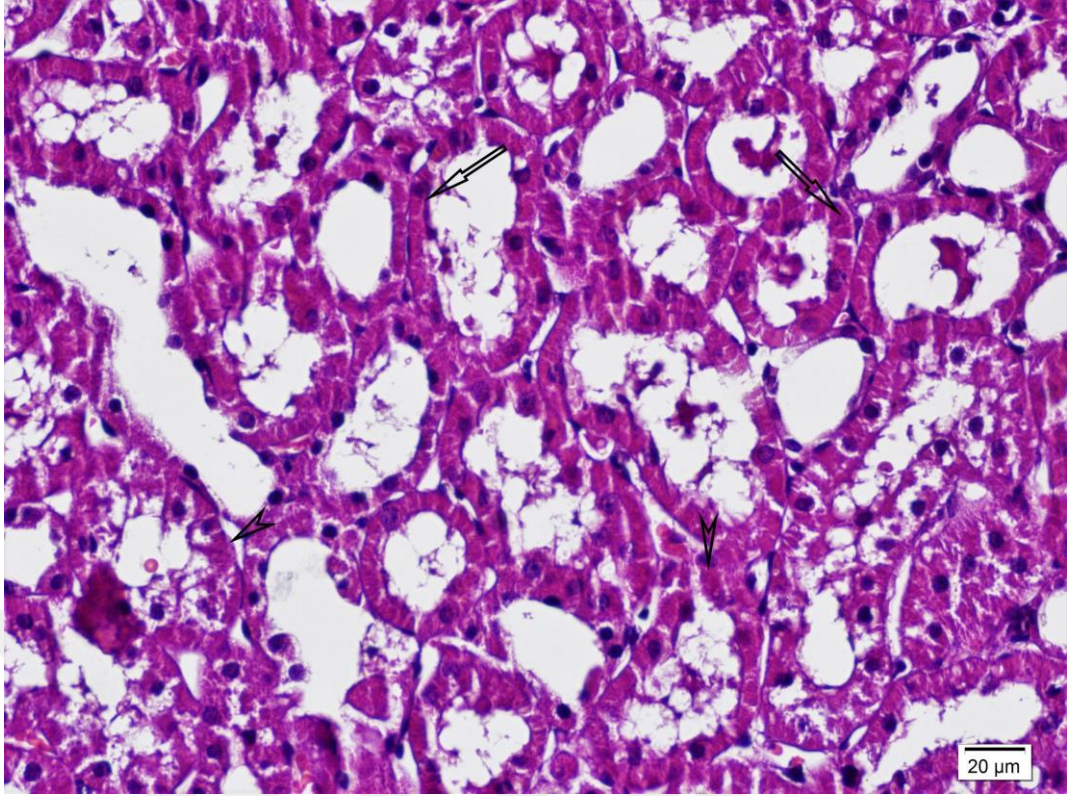
*: p<0.05, **d**: Pearson Ki-kare Testi



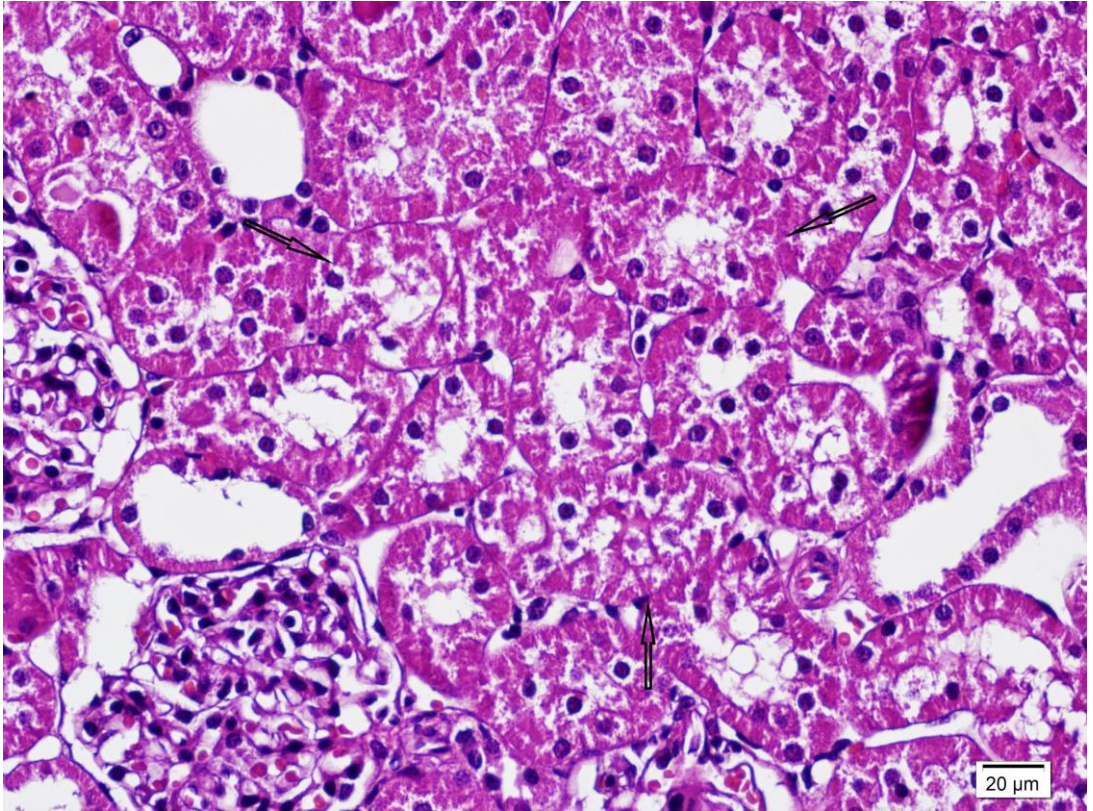
Resim 4.1: Grup S'de düzenli yapıda glomerüller (oklar) (H&Ex400)



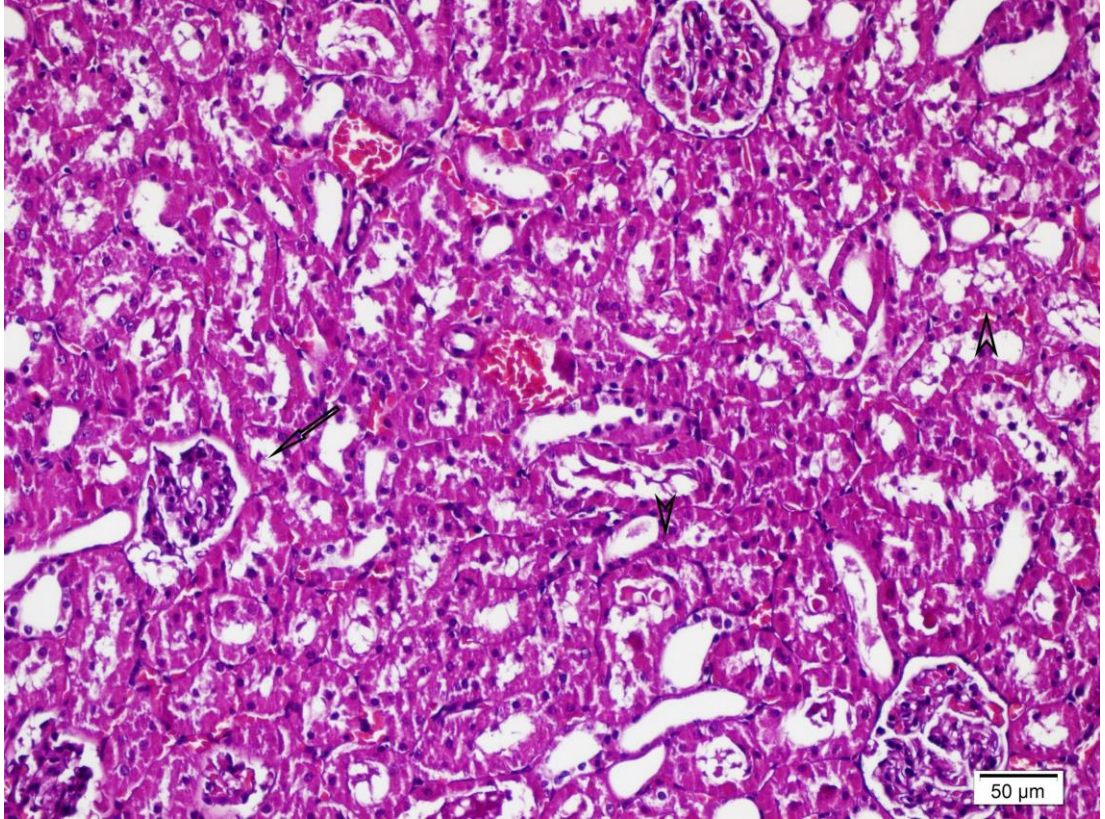
Resim 4.2: Grup S'de tübüllerde dilatasyon (oklar) (H&Ex200)



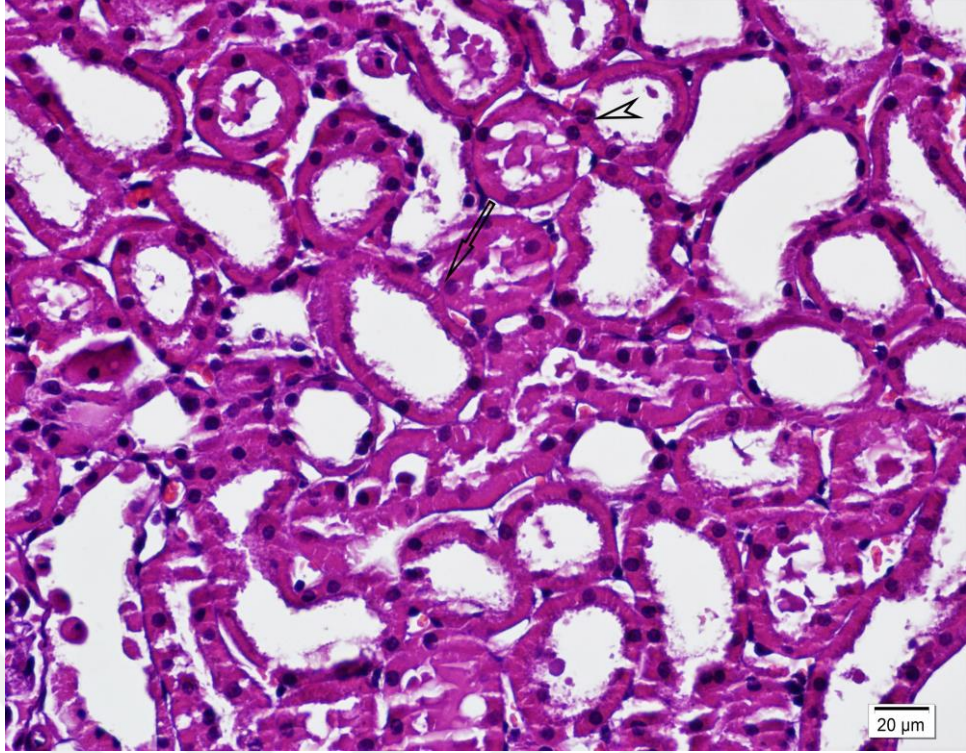
Resim 4.3: Grup İR'de tübüler fırçamsı kenar kaybı (oklar) ve tübüler vakuolizasyon (ok başları) (H&Ex400)



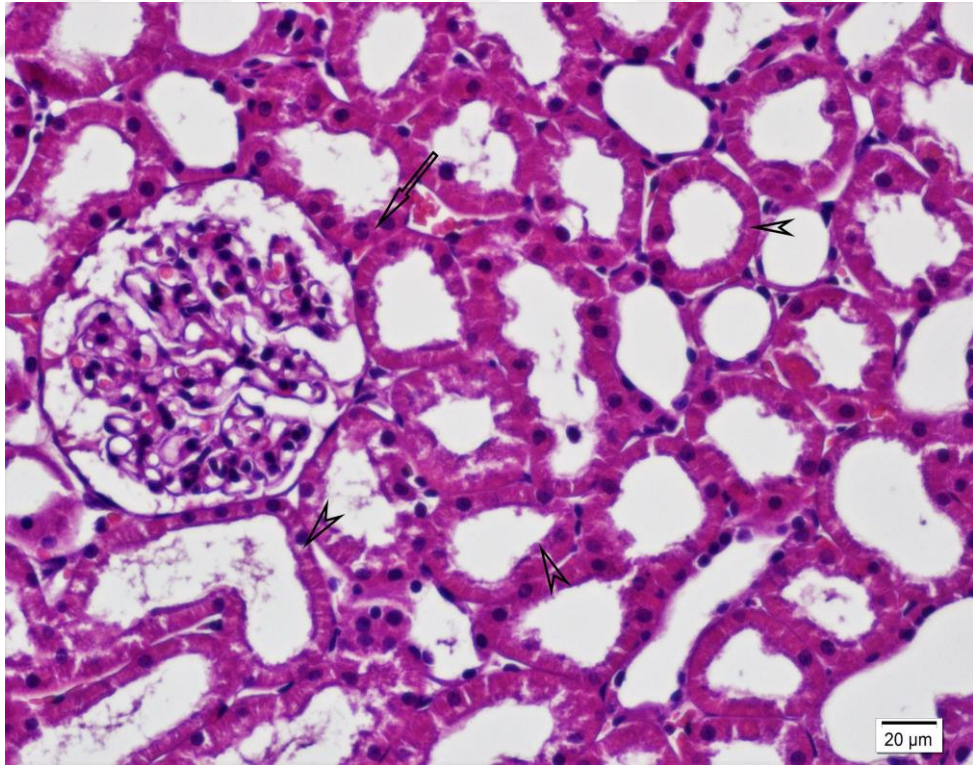
Resim 4.4: Grup İR'de tübül epitelinde lümene dökülme (oklar) (H&Ex400)



Resim 4.5: Grup İR'de glomerülde büzüşme (ok) ve tübüler vakuolizasyon (ok başları) (H&Ex200).



Resim 4.6: Grup C’de tübüllerin bir kısmında korunmuş fırçası kenar (ok) (H&Ex400)



Resim 4.7: Grup İR+C’de düzenli yapıda glomerül (ok), tübül yapıları ve korunmuş fırçası kenar (ok başları) (H&Ex400).

Dört çalışma grubunun tübüler fırçamsı kenar kaybı skorları ($p=0.003$), renal korpuskül morfolojisinde şişme/büzüşme skorları ($p=0,02$), tübüler vakualizasyon skorları ($p<0.001$), tübüler epitelin lümene dökülme skorları ($p<0.001$) ve total histopatolojik skorları ($p=0.001$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (Tablo 4.7).

Tablo 4.7: Histopatolojik skorların çalışma gruplarındaki dağılımı

	Grup S	Grup İR	Grup C	Grup İR+C	^a p
Kapiller vazodilatasyon/konjesyon	0.33±0.52	0.67±0.82	1.50 ±0.84	0.33±0.52	0.063
Tübüler fırçamsı kenar kaybı	0.00±0.00	1.67 ±0.82	0.17 ±0.41	0.17±0.41	0.003*
Tübüler vazodilatasyon	0.50±0.55	1.17 ±0.75	0.50 ±0.55	1.33±0.52	0.059
Renal korpuskül morfolojisinde şişme/büzüşme	0.00±0.00	0.67 ±0.82	0.00 ±0.00	0.00±0.00	0.02*
Tübüler vakualizasyon	0.00±0.00	2.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.50±0.55	<0.001*
Tübüler epitelin lümene dökülmesi	0.00±0.00	2.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.33±0.52	<0.001*
Total histopatolojik skor	0.83±0.75	8.17±1.94	2.17±0.98	2.67±1.63	0.001*

*: $p<0.05$, **a**: Kruskal-Wallis Testi

Tübüler fırçamsı kenar kaybı skorları için yapılan post-hoc analizlerde Grup S ile Grup İR arasında ($p\leq 0.01$), Grup İR ile Grup C arasında ($p\leq 0.05$) ve Grup İR ile Grup İR+C arasında ($p\leq 0.05$) anlamlı fark saptanmıştır.

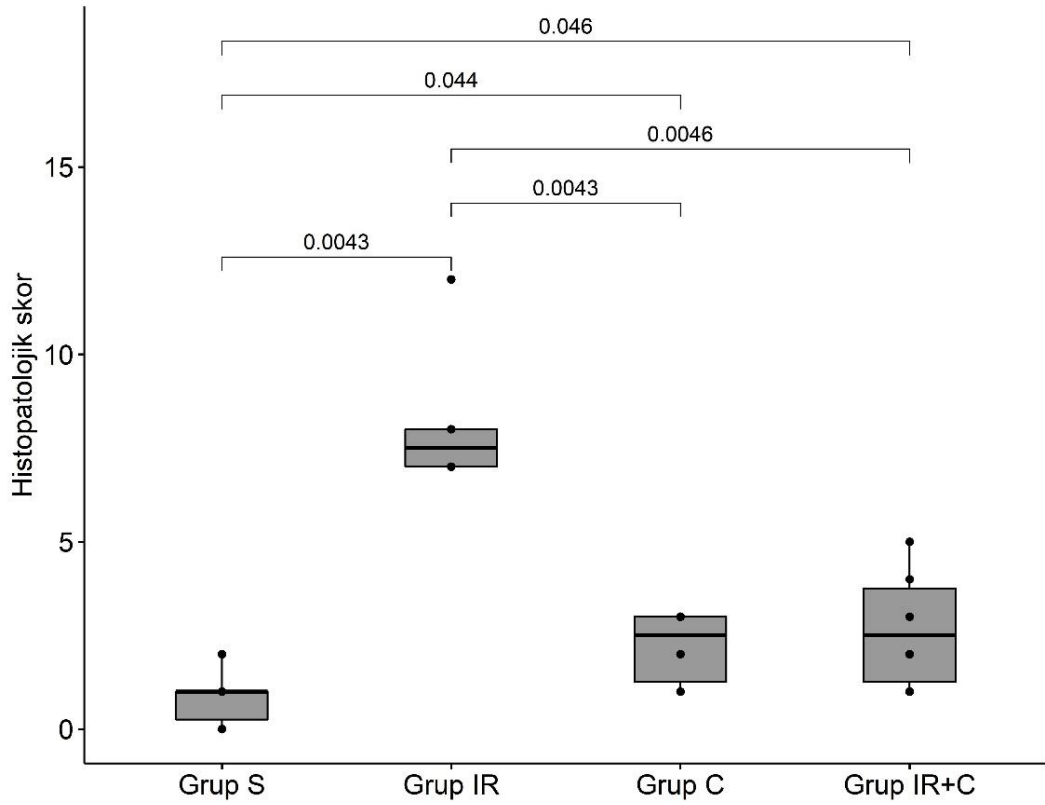
Renal korpuskül morfolojisinde şişme/büzüşme skorları için yapılan post-hoc analizlerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tübüler vakualizasyon skorları için yapılan post-hoc analizlerde Grup S ile Grup İR arasında ($p\leq 0.001$), Grup İR ile Grup C arasında ($p\leq 0.001$) ve Grup İR ile Grup İR+C arasında ($p\leq 0.05$) anlamlı fark saptanmıştır.

Tübüler epitelin lümene dökülmesi skorları için yapılan post-hoc analizlerde Grup S ile Grup İR arasında ($p\leq 0.001$), Grup İR ile Grup C arasında ($p\leq 0.001$) ve Grup İR ile Grup İR+C arasında ($p\leq 0.05$) anlamlı fark saptanmıştır.

Total histopatolojik skorların iki çalışma grubu arasındaki karşılaştırmalarında Grup S (ort±SS: 0.83±0.75) ile Grup İR (ort±SS: 8.17±1.94) arasında ($p=0.0043$), Grup S (ort±SS: 0.83±0.75) ile Grup C

(ort $\pm$ SS: 2.17 $\pm$ 0.98) arasında ($p=0.044$), Grup S (ort $\pm$ SS: 0.83 $\pm$ 0.75) ile Grup İR+C (ort $\pm$ SS: 2.67 $\pm$ 1.63) arasında ($p=0.046$), Grup İR (ort $\pm$ SS: 8.17 $\pm$ 1.94) ile Grup C (ort $\pm$ SS: 2.17 $\pm$ 0.98) arasında ($p=0.0043$) ve Grup İR (ort $\pm$ SS: 8.17 $\pm$ 1.94) ile Grup İR+C (ort $\pm$ SS: 2.67 $\pm$ 1.63) arasında ($p=0.0046$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Post-hoc testlerde Grup S ile Grup İR+C arasında ($p\leq 0.001$) ve Grup İR ile Grup C arasında ($p\leq 0.05$) anlamlı fark saptanmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: Histopatolojik skorların Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi)

Oksidatif stres ile ilişkili parametrelerin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması Tablo 4.8'de gösterilmiştir.

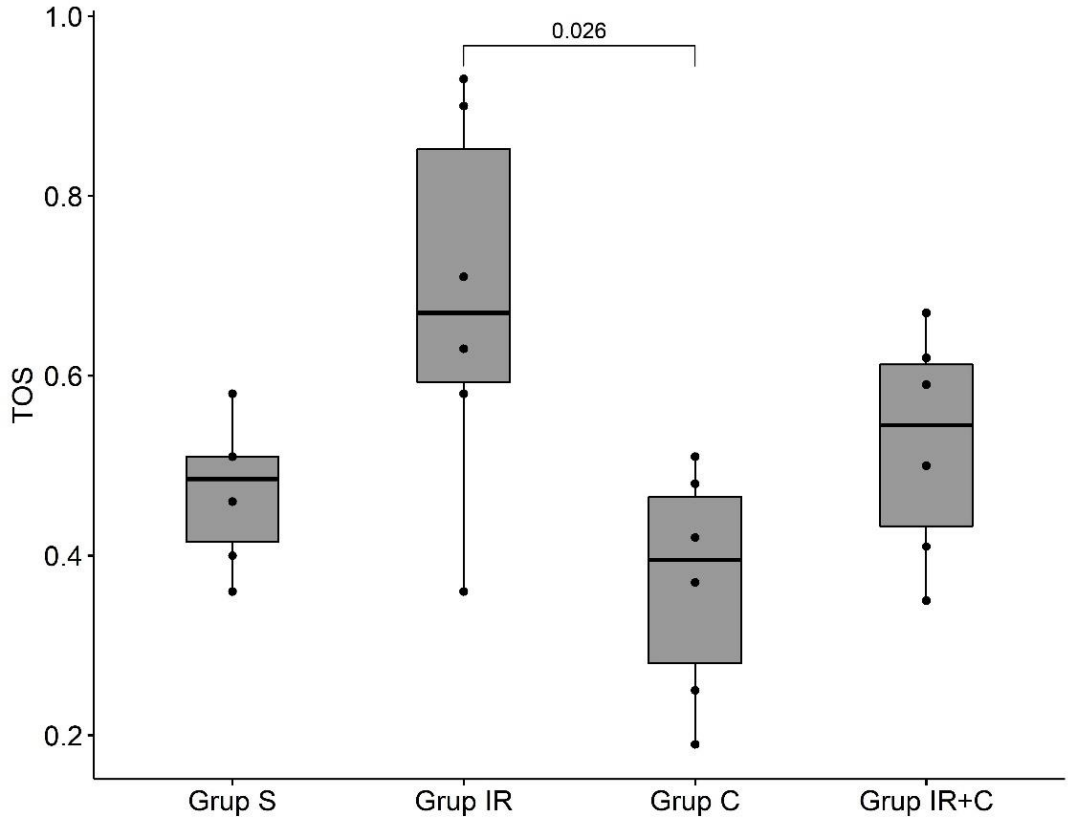
Tablo 4.8: Oksidatif stres ile ilişkili parametrelerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması

	Grup S, n=6	Grup İR, n=6	Grup C, n=6	Grup İR+C, n=6	^ap
TOS	0.47±0.08	0.68 ±0.21	0.37±0.13	0.52±0.13	0.048*
TAS	1.54±0.08	1.31±0.14	1.49±0.05	1.46±0.12	0.016*
OSİ	0.03±0.01	0.05±0.02	0.02±0.01	0.04±0.01	0.064
T-Tiyol	1067±61.9	937±28.0	990±33.2	985±17.6	0.002*
N-Tiyol	375±58.2	253±18.4	306±26.9	296±8.86	<0.001*
Tiyol/Disülfid	3.08±0.16	2.73±0.06	2.90±0.08	2.86±0.04	0.001*
PON-1	118±48.9	71.0±19.1	129±30.6	89.3±21.8	0.038*
İMA	0.96±0.01	0.97±0.01	0.94±0.01	0.95±0.01	0.001*

*: p<0.05, **a**: Kruskal-Wallis Testi

Dört çalışma grubunun TOS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (p=0.048). Post-hoc testlerde Grup İR ile Grup C arasında anlamlı fark saptanmıştır (p≤0.05).

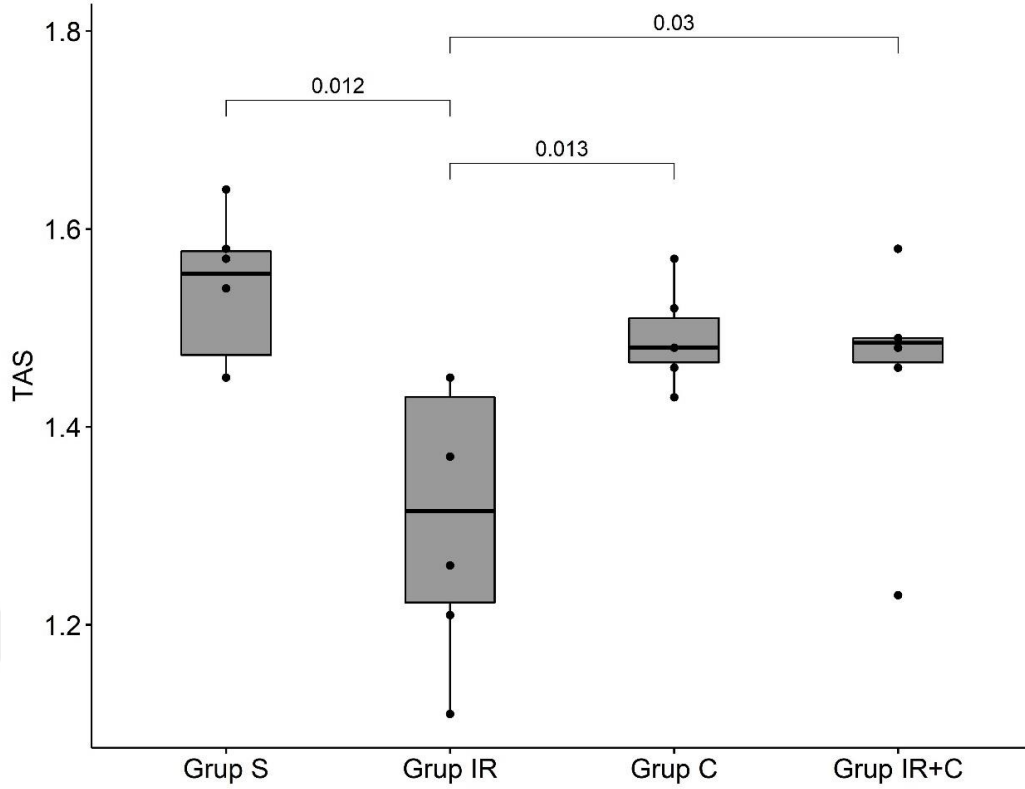
TOS düzeylerinin iki çalışma grubu arasındaki karşılaştırmalarında sadece Grup İR (ort±SS: 0.68 ±0.21) ile Grup C (ort±SS: 0.37±0.13) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0.026), (Şekil 4.4). Diğer ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark yoktur.



Şekil 4.4: TOS düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi)

TAS düzeylerinin iki çalışma grubu arasındaki karşılaştırmalarında; Grup S (ort±SS: 1.54±0.08) ile Grup İR (ort±SS: 1.31±0.14) arasında ($p=0.012$), Grup İR (ort±SS: 1.31±0.14) ile Grup C (ort±SS: 1.49±0.05) arasında ($p=0.013$) ve Grup İR (ort±SS: 1.31±0.14) ile Grup İR+C (ort±SS: 1.46±0.12) arasında ($p=0.03$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Şekil 4.5). Diğer ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark yoktur.

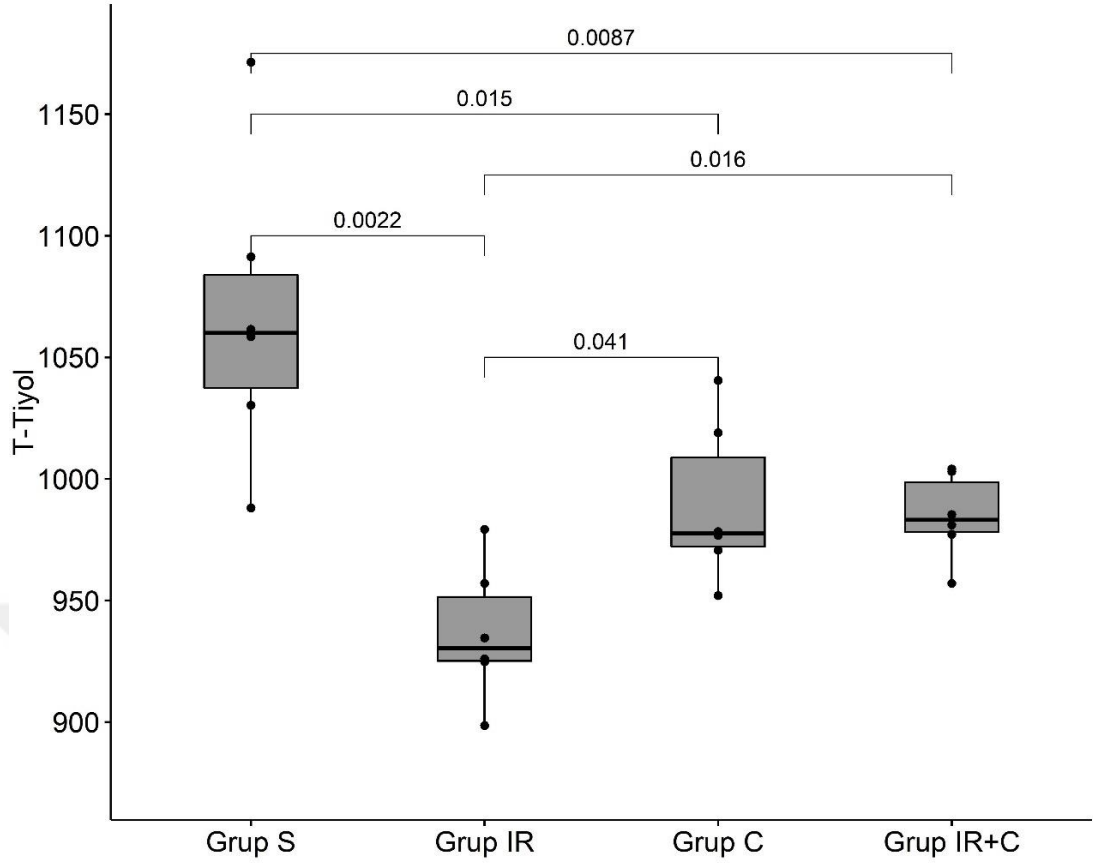
Dört grup arasında TAS düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p=0.016$). Post-hoc testlerde sadece Grup S ile Grup İR arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p\leq 0.05$).



Şekil 4.5: TAS düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi)

T-Tiyol düzeylerinin iki çalışma grubu arasındaki karşılaştırmalarında; Grup S (ort $\pm$ SS: 1067 $\pm$ 61.9) ile Grup İR (ort $\pm$ SS: 937 $\pm$ 28.0) arasında ($p=0.002$), Grup S (ort $\pm$ SS: 1067 $\pm$ 61.9) ile Grup C (ort $\pm$ SS: 990 $\pm$ 33.2) arasında ($p=0.015$), Grup S (ort $\pm$ SS: 1067 $\pm$ 61.9) ile Grup İR+C (ort $\pm$ SS: 985 $\pm$ 17.6) arasında ($p=0.009$), Grup İR (ort $\pm$ SS: 937 $\pm$ 28.0) ile Grup C (ort $\pm$ SS: 990 $\pm$ 33.2) arasında ($p=0.041$) ve son olarak Grup İR (ort $\pm$ SS: 937 $\pm$ 28.0) ile Grup İR+C (ort $\pm$ SS: 985 $\pm$ 17.6) arasında ($p=0.016$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Şekil 4.6). Diğer ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark yoktur.

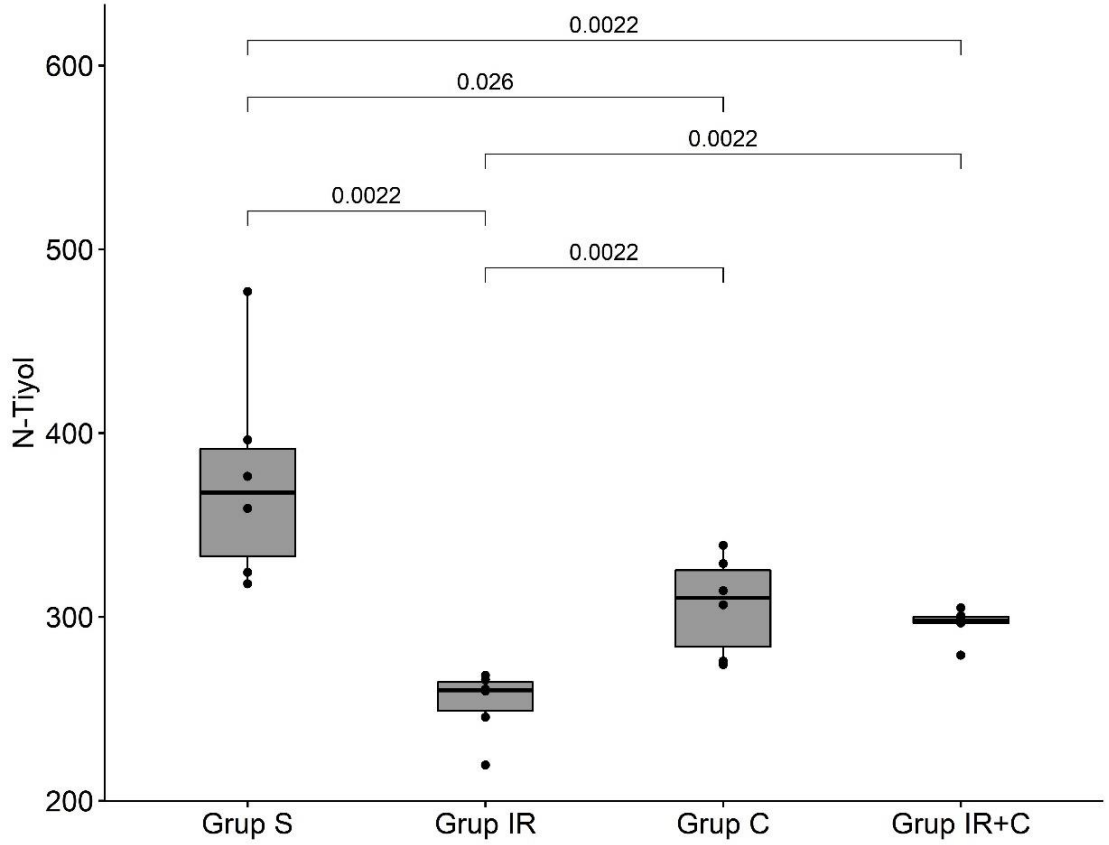
Dört grup arasında T-tiyol düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p=0.002$). Post-hoc testlerde Grup S ile Grup İR arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p\leq 0.001$).



Şekil 4.6: T-Tiyol düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi)

N-Tiyol düzeylerinin iki çalışma grubu arasındaki karşılaştırmalarında Grup S (ort $\pm$ SS: 375 $\pm$ 58.2) ile Grup İR (ort $\pm$ SS: 253 $\pm$ 18.4) arasında ($p=0.002$), Grup S (ort $\pm$ SS: 375 $\pm$ 58.2) ile Grup C (ort $\pm$ SS: 306 $\pm$ 26.9) arasında ($p=0.026$), Grup S (ort $\pm$ SS: 375 $\pm$ 58.2) ile Grup İR+C (ort $\pm$ SS: 296 $\pm$ 8.86) arasında ($p=0.002$), Grup İR (ort $\pm$ SS: 253 $\pm$ 18.4) ile Grup C (ort $\pm$ SS: 306 $\pm$ 26.9) arasında ($p=0.002$) ve Grup İR (ort $\pm$ SS: 253 $\pm$ 18.4) ile Grup İR+C (ort $\pm$ SS: 296 $\pm$ 8.86) arasında ($p=0.002$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Şekil 4.7). Diğer ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark yoktur.

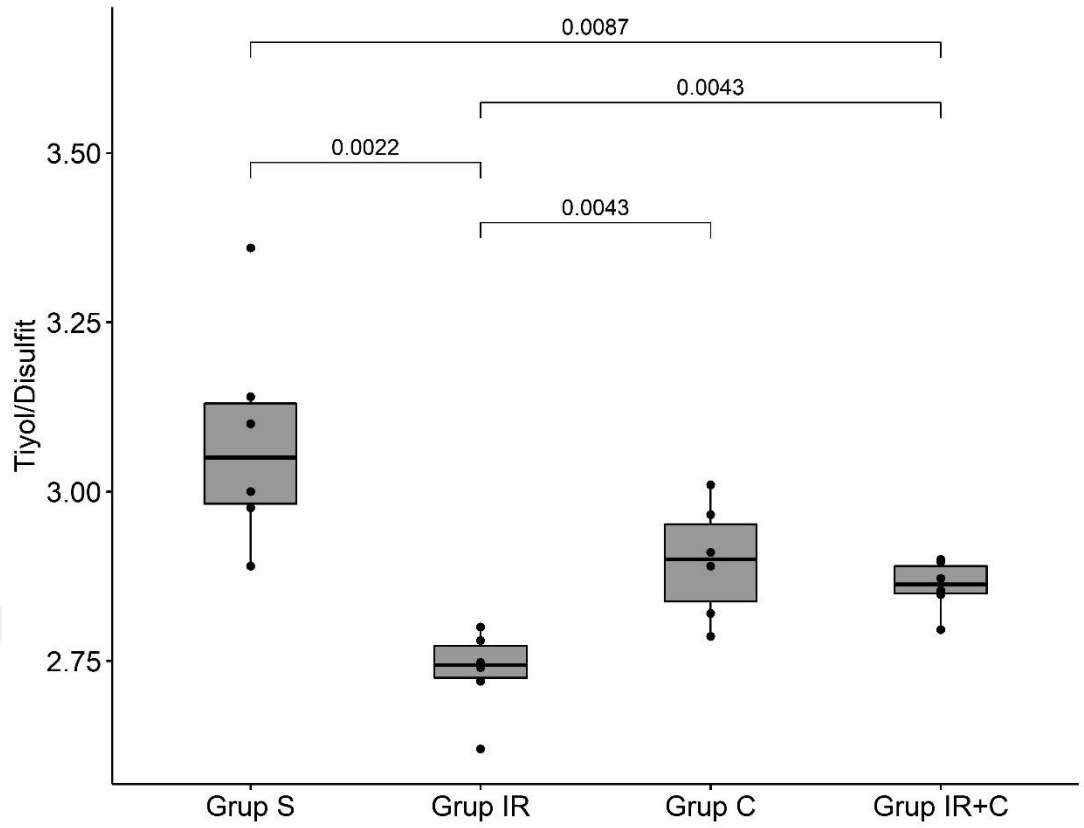
Dört grup arasında N-tiyol düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0.001$). Post-hoc testlerde Grup S ile Grup İR arasında ($p\leq 0.001$) ve Grup İR ile Grup C arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p\leq 0.05$).



Şekil 4.7: N-Tiyol düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi)

Tiyol/disülfüt düzeylerinin iki çalışma grubu arasındaki karşılaştırmalarında Grup S (ort±SS: 3.08±0.16) ile Grup İR (ort±SS: 2.73±0.06) arasında ($p=0.002$), Grup S (ort±SS: 3.08±0.16) ile Grup İR+C (ort±SS: 2.86±0.04) arasında ($p=0.009$), Grup İR (ort±SS: 2.73±0.06) ile Grup C (ort±SS: 2.90±0.08) arasında ($p=0.004$) ve son olarak Grup İR (ort±SS: 2.73±0.06) ile Grup İR+C (ort±SS: 2.86±0.04) arasında ($p=0.004$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Şekil 4.8). Diğer ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark yoktur.

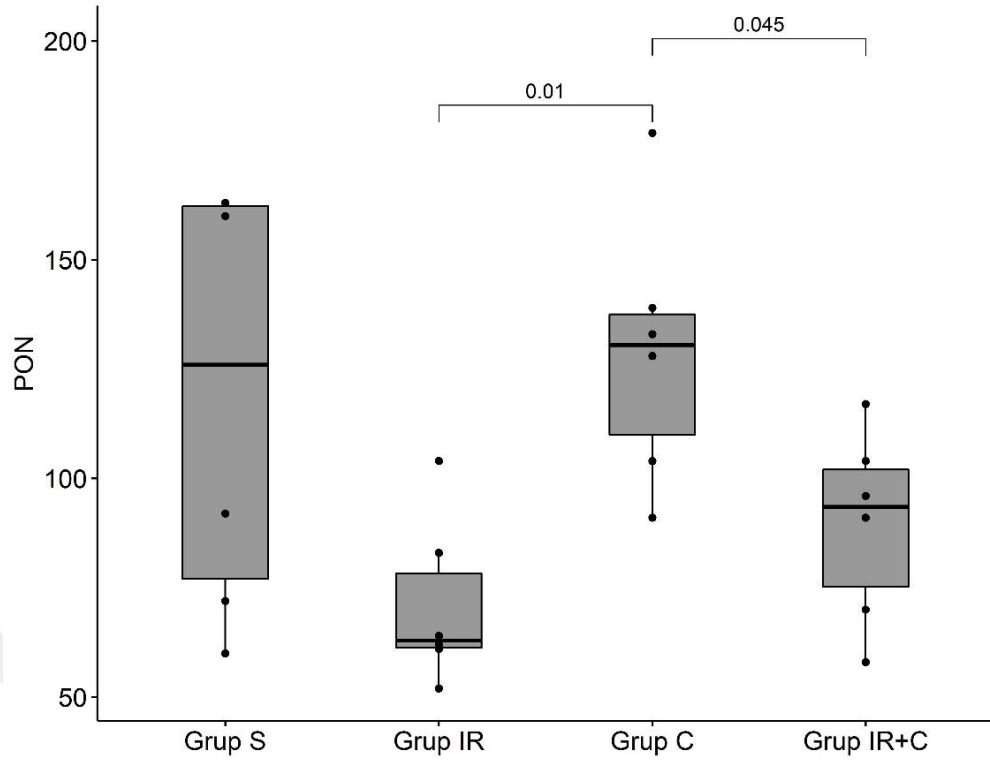
Dört grup arasında Tiyol/disülfüt düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0.001$). Post-hoc testlerde Grup S ile Grup İR arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p\leq 0.001$).



Şekil 4.8: Tiyol/Disülfüt düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi)

PON-1 düzeylerinin iki çalışma grubu arası karşılaştırmalarında Grup İR (ort $\pm$ SS: 71.0 $\pm$ 19.1) ile Grup C (ort $\pm$ SS: 129 $\pm$ 30.6) arasında ($p=0.01$) ve Grup C (ort $\pm$ SS: 129 $\pm$ 30.6) ile Grup İR+C (89.3 $\pm$ 21.8) arasında ($p=0.045$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Şekil 4.9). Diğer ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark yoktur.

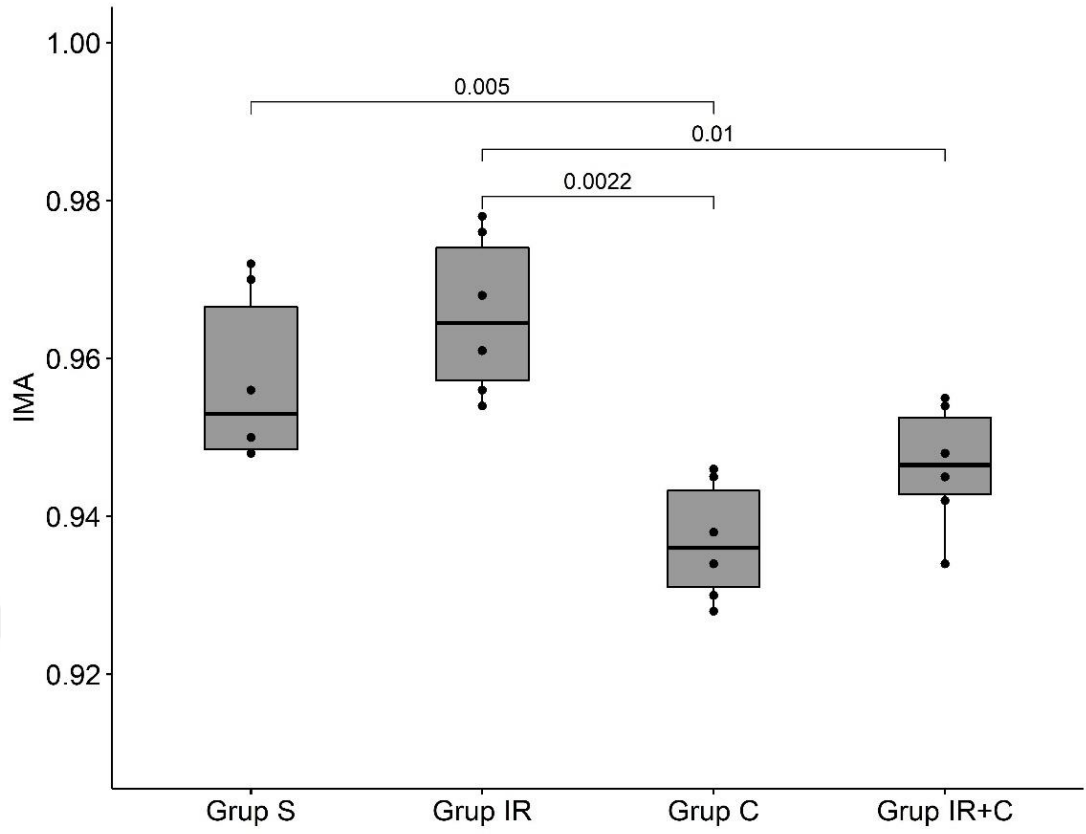
Dört grup arasında PON-1 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0.001$). Post-hoc testlerde Grup İR ile Grup C arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p\leq 0.05$).



Şekil 4.9: PON-1 düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi)

İMA düzeylerinin iki grup arasındaki karşılaştırmalarında, Grup S (ort $\pm$ SS: 0.96 $\pm$ 0.01) ile Grup C (ort $\pm$ SS: 0.94 $\pm$ 0.01) arasında ($p=0.005$), Grup İR (ort $\pm$ SS: 0.97 $\pm$ 0.01) ile Grup C (ort $\pm$ SS: 0.94 $\pm$ 0.01) arasında ($p=0.002$) ve Grup İR (ort $\pm$ SS: 0.97 $\pm$ 0.01) ile Grup İR+C (ort $\pm$ SS: 0.95 $\pm$ 0.01) arasında ($p=0.01$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Şekil 4.10). Diğer ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark yoktur.

Dört grup arasında İMA düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p=0.001$). Post-hoc testlerde Grup S ile Grup C arasında ($p\leq 0.05$) ve Grup İR ile Grup C arasında ($p\leq 0.01$) anlamlı fark saptanmıştır.



Şekil 4.10: İMA düzeylerinin Grup S, Grup İR, Grup C ve Grup İR+C arasında karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi)

TARTIŞMA ve SONUÇ

İskemi-reperfüzyon (İR) hasarı sonrası gelişen akut böbrek yetmezliği; GFR’de azalma, akut tübüler nekroz ve renal vazokonstriksiyon sonucu aşırı miktarda serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşumu nedeniyle oksidatif strese yol açar. İR hasarı fizyopatolojisinde SOR’ un önemli rol oynadığı belirtilmektedir. Serbest radikaller; nükleik asitler, serbest amino asitler, proteinler, lipitler, lipoproteinler ve karbonhidratlar gibi canlı organizmaların yapısındaki neredeyse tüm biyomoleküllerle reaksiyona girerek bunlar üzerinde geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hasar meydana getirebilmektedirler (90–92). Bu komplikasyonları engellemek ve vücut sıvı-elektrolit dengesini sağlamak için ekstrakorporeal kan temizleme yöntemleri kullanılmaktadır (6,7). Sürekli diyaliz sistemlerinde kullanılan etkin antikoagülan yöntemlerinden biri sitrattır (8).

Tiranathanagul K. ve ark. yaptığı çalışmaya göre heparinli sürekli venö-venöz hemodiyafiltrasyon (CVVHDF) uygulanan grupla kıyaslandığında, sitratlı hemodiyaliz (HD) uygulanan grupta oksidatif hasardan sorumlu tutulan ajanlardan biri olan myeloperoksidaz (MPO) salınımının azalmış olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada sitrat ile HD uygulanan grupta heparinli gruba göre proinflatuar bir sitokin olan IL-8 seviyesinin azaldığı gösterilmiştir. Böylece sitratin oksidatif stresi azaltarak anti-inflatuar etki gösterdiği belirtilmiştir (85,93). Ayrıca hipoksi ve/veya reoksijenasyon sırasında ortama sitratin kendisini içeren sitrik asit döngüsü metabolitlerinin eklenmesi, proksimal renal tübüllerde substrat düzeyinde fosforilasyonu teşvik ederek biriken esterleşmemiş yağ asitlerini azaltıp enerjik işlevi ve iyileşmeyi kolaylaştırmaktadır (84,94).

Renal İR hasarının deneysel modellerinde faydalı olduğu belirtilen pek çok farmakolojik seçenek geliştirilmesine yönelik çalışmalar mevcuttur. İçinde bulunduğumuz yüzyılda diyaliz ihtiyacını azaltacak, ABY'nin seyrini kısaltacak, ABY'li hastaların hayatta kalma oranını artıracak ve tedavi maliyetlerini azaltacak yeni farmakolojik müdahalelere büyük bir tıbbi ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, iskemiye bağlı ABY’de farmakolojik

tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi, yoğun bir araştırma alanı oluşturmaktadır (95).

Böbrek fonksiyonlarının hayati önemi düşünüldüğünde hasarın oluşumunu engellemek morbidite, mortalite ve tedavi maliyetlerini azaltmaktadır. Bu yüzden antioksidan ve/veya antienflamatuvar özellikleri olan birçok maddenin bu hasarın azaltılmasına yönelik kullanımı konusunda çalışmalar yapılmaktadır (10–14). Çalışmamızı klinikte böbrek hasarı gelişmiş ya da gelişmekte olan hastalarda RRT’de sitratın kullanılıyor olmasından yola çıkarak oluşturduk. Çalışmamızda ratlarda böbrek iskemi reperfüzyon hasarı üzerinde sitratın önkoşullayıcı etkisini histopatolojik yöntemlerle ve total oksidan/antioksidan seviyeleri, tiyol/disülfid dengesi, iskemi modifiye albümin düzeyi, paraoksonaz-1 enzim seviyesiyle ilişkisini de biyokimyasal yöntemlerle değerlendirdik. Sitrat uygulamasının histopatolojik incelemede hasar skorlarını düşürdüğünü gözlemledik. Ayrıca sitratın oksidatif stres ile ilişkili parametrelerden TOS seviyesini azaltıp TAS seviyesini yükselttiğini ve tiyol/disülfid oranını tiyoller yönünde artırdığını tespit ettik. Böbrek İR hasarında PON-1 seviyesinin azaldığını, sitrat uygulandığında İMA düzeyinin düştüğünü gözlemledik.

Deneysel böbrek İR hasarına rat böbreklerinin verdiği etkili yanıt nedeniyle çalışmamızda Wistar-Albino cinsi sıçanlar kullandık (96).

Sıçan böbreklerinde İR hasarının etkilerinin ortaya çıkması için belirli bir iskemi süresine ihtiyaç vardır. Böbrekteki etkilenmenin 30 dakikanın üzerindeki iskemi sürelerinde daha net gözlemlendiği kabul edilmektedir (97,98). Paller ve ark. sıçan böbreğinde 60 dakikalık iskemi süresinden sonra reperfüzyon hasarının ortaya çıktığını belirtmişlerdir (90). İskemi maruziyeti 3 saatten uzun sürdüğünde böbrekte kalıcı hasar oluşabilmekteyken, 1 saatten kısa süreyle oluşturulan iskeminin geçici fonksiyon kaybı için yeterli olduğu belirtilmiştir (99). Bunun yanında Yamaki ve ark. 30 dakikalık renal iskemi sonrası renal tübüllerde orta derecede nekroz, medüller konjesyon ve fonksiyonel değişiklikler saptadıklarını çalışmalarında belirtmişlerdir (100). Benzer şekilde Selçuk ve ark. 30 dk. renal iskemi sonrası 60 dk. boyunca uygulanan reperfüzyonun tübüllerde saptanan iskemik hasarı daha da belirginleştirdiğini göstermişlerdir (101). Diğer yandan reperfüzyon süreleri için de literatürde görüş birliği bulunmamaktadır. ABY'nin indüksiyonu için, 45 dakikalık iskemi ardından 24 saatlik reperfüzyonun uygulandığı

çalışmalar bulunmaktadır (102,103). Meyer ve ark. yaptığı çalışmada iki farklı gruba 30 dk. ve 60 dk. süreyle uyguladıkları böbrek iskemi oluşturulması modelinde deneklerin böbreklerinde 20. dakikadan sonra reperfüzyon hasarını gösteren önemli bulgular gözlemlemişlerdir (104). Koçoğlu ve ark. ratlarda deksmetedomidinin böbrek iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini inceledikleri bir çalışmada böbrek iskemi süresi 60 dk. iken reperfüzyon süresi 45 dk. olarak belirlemiş ve böbreklerde iskemik hasar oluşumunu histopatolojik olarak göstermişlerdir (105).

Bilateral renal iskemi ile ilişkili kan basıncında önemli bir düşmenin gözlemlenebileceği yapılan bir çalışmada belirtilmektedir (106). Bienholz A. ve ark. bilateral renal klemplemenin, İR ile indüklenen ABY sıçan modelinde, hipotansiyonla başa çıkabilmek için bolus salın enjeksiyonları kullanılmasına rağmen OAB'de bir düşüşe yol açtığını belirtmişlerdir (107). Bilateral renal klempleme sırasında hipotansiyon indüksiyonunda yer alan mekanizma tam belirlenmiş olmamasına rağmen bu etkinin renal denervasyonda görülene benzer bir etkiyle, klemplemenin kendisinin renal arteri çevreleyen sempatik sinirler ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (9). Biz de literatür bilgilerinden yola çıkarak deneklerin mortalitesini artırabilecek hemodinamik ve metabolik sorunları engelleyebilmek amacıyla ideal iskemi süresini 40 dk. ve reperfüzyon süresini 60 dk. olarak belirledik. Çalışmamızdaki grupların böbrek fonksiyon testlerinden serumda ölçülen üre, kreatinin düzeyleri ve histopatolojik incelemeler karşılaştırıldığında, iskemi yapılan ve iskemi yapılmayan gruplar arasında birçok parametrede istatistiksel olarak anlamlı fark olması ratlarda uyguladığımız 40 dk. renal iskemi ve 60 dk. reperfüzyon süresinin İR hasarı oluşturmada yeterli olduğunu göstermektedir.

Bienholz ve ark. yapmış olduğu ratlar üzerindeki deneysel çalışmada böbrek İR hasarı öncesi 1,0 mmol/kg/saat sitrat infüzyonunun, 0,3 mmol/ kg/saat ve 0,6 mmol/kg/saat sitrat infüzyonu uygulamasına göre iskemi sonrası erken fazda böbrekler üzerinde koruyucu etkisinin daha anlamlı olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada sitrat, trisodyum sitrat olarak verildiği için her sitrat molekülünün infüzyonuna üç sodyum iyonu eşlik ettiği belirtilmiştir. Ekstra sodyumun intravasküler hacmi artırarak daha iyi erken reperfüzyon ve intratübüler solüt akışını destekleyip İR nedenli hasarın iyileşmesinde katkısı olabileceği belirtilmiştir. Sitratın, reoksijenasyon gibi aerobik koşullar

altında, sitrik asit döngüsünün ileri çalışmasını destekleyebileceği ve substrat düzeyinde fosforilasyonu sürdürmek için a-ketoglutarat üretimine neden olabileceği belirtilmiştir. Bununla birlikte, sitrat infüzyonunun eşlik ettiği yüksek sodyum yükünü kontrol etmek için yürütülen bir takip çalışmasında, koruyucu etkilerin sodyumdan ziyade sitrat tarafından sağlandığı ve sodyum yükü nedeniyle kan basıncının artmasına neden olacak şekilde kan hacminde büyük değişiklikler gelişmediği doğrulanmıştır. Sitrat infüzyon dozunun 1,5 mmol/kg/saat'e çıkartıldığı başka bir çalışmalarında ise ek fayda sağlamadığını belirtmişlerdir (9). Biz de önkoşullama amacıyla başladığımız sitrat infüzyon dozunu 1,0 mmol/kg/saat olarak belirledik.

İnsanlarda olduğu kadar kemirgenlerde de trisodyum sitrat, başta karaciğer olmak üzere iskelet kası ve böbrek gibi organlarda yüksek oranda metabolize olarak sitrik aside dönüştürülür (108). Sitratın karbondioksit ve suya metabolize olması sırasında ise hidrojen tüketildiğinden, potansiyel metabolik alkaloz riski ile kan pH'ı yükselebilir (83). Öte yandan, yetersiz bir metabolizma sitrat birikimine ve asidoza neden olabilir (109). Çalışmamızda sitrata eşlik eden Na^+ yükünün hemodinamik etkilerini kontrol etmek için çalışma süresince invaziv arter kateterden basınç ve nabız takibi yapıldı. Çalışmamızda hemodinamik denge için gerekli olan iyonize kalsiyum seviyeleri, sabit oranlarda %10 kalsiyum glukonat infüzyonu ile fizyolojik aralıkta tutuldu (110).

Tüm bu potansiyel komplikasyonlar düşünüldüğünde çalışmamızdaki deneklerin metabolik değişikliklerini yakından takip edip müdahalede bulunabilmek için belirli aralıklarla arter kan gazı analizi yapıldı.

Başlangıç kan gaz ölçümünden elde edilen değerleri incelediğimizde gruplar arasında pH, SO_2 , pCO_2 , Hb, Hct, Na^+ , Cl^- , K^+ , Ca^{+2} , laktat, HCO_3 ve BE değerleri arasında fark saptanmadı. Çalışmanın başlangıcında kaydedilen kalp atım hızı (KAH) değerleri ile kan gaz parametrelerinden pO_2 değerlerinin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermesinin ise çalışma sırasında yapılan işlemlerin süresinin (trakeostomi açılması, femoral arter kateter yerleştirilmesi gibi) her sıçanda farklılık göstermesinden kaynaklı olabileceği düşünüldü. Başlangıçta farklılık gösteren glukoz değerlerinin ise ratların yiyecek ve suya erişimi kısıtlanmadığı için ratların açlık süresinin farklı olmasından kaynaklanabileceğini düşündük. Neticede bu

değişikliklerin fizyolojik sınırlarda olup çalışma sonucuna etkisinin olmayacağı kanısındayız.

Klor değerlerinin İR uygulanan gruplarda çalışma süresince yükselme sebebinin uzun süren cerrahi işlem boyunca oluşan sıvı kaybının hemodinamik dengeyi bozmaması için uygulanan %0,9 NaCl çözeltisine eşlik etmesinden kaynaklı olabileceğini düşündük.

İyonize kalsiyum seviyelerinde azalmanın sitratın kalsiyumu şelatlama özelliğinden dolayı geliştiğini düşündük. Liu Y. C. ve ark. yaptığı çalışmaya göre kardiyovasküler sistem ve hemodinamik sistem üzerinde klinik belirtiler gösteren kandaki iyonize kalsiyum düzeyinin 0,8 mmol/L'nin altındaki değerlerde indüklendiği gösterilmiştir (111). Bizim çalışmamızda iyonize kalsiyum seviyeleri ortalaması en düşük Grup İR+C'nin reperfüzyonun sonundaki dönemde gözlemlendi (1.07 ± 0.02) ve en düşük iyonize kalsiyum seviyesi 1,02 mmol/L olup Grup C'de sitrat infüzyonunun 90.dakikasında alınan kan gazında tespit ettik.

Laktat düzeylerinin özellikle Grup İR+C'de çalışma süresince artış göstermesinin şiddetli İR hasarıyla ilişkili olduğunu düşündük.

Glukoz değerlerinde Grup İR+C'de çalışma süresince artış gözlenmiş olup bunun da diğer gruplara göre uzayan çalışma süresi ve cerrahi strese yanıt olarak artan katekolaminler nedeniyle olabileceğini düşündük.

Bikarbonat ve BE değerlerinde Grup C ve Grup İR+C'de istatistiksel açıdan fark görülmesine rağmen bu rakamsal değerlerin klinik açıdan anlamlı olmadığını düşündük.

Şener ve ark. ratlar üzerinde yapmış olduğu çalışmada böbrek İR hasarının kreatin ve kan üre azotunu artırdığı gösterilmiştir (112). Çalışmamızdaki 4 grubunun çalışma sonunda alınan kan örnekleri incelendiğinde kreatin ve üre değerleri İR uygulanan gruplarda (Grup İR ve Grup İR+C) uygulanmayan gruplara göre (Grup S ve Grup C) yüksek olduğunu tespit ettik. Gruplar arasında en yüksek kreatin ve üre değerleri Grup İR'ye ait olup bu sonuçların çalışmamızda belirlenen iskemi ve reperfüzyon sürelerinin böbreklerde hasar oluşturmada yeterli süreler olduğunu biyokimyasal olarak desteklemiş olduk.

Yapılan çalışmalarda böbrek İR hasarının, böbreklerin glomerüler yapısında, kapillerlerinde, tübüllerde, tübüllerin epitelindeki fırçamsı kenarlarda,

toplayıcı kanallarda ve intersitisyel alanda yapısal değişiklikler gösterildiği belirtilmektedir (105,113,114). Ancak literatürde sitrat infüzyon uygulamasının böbrek dokusundaki İR hasarı ile ilişkisini gösteren histopatolojik çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda böbrek dokusu histopatolojik skorları incelendiğinde en yüksek skor Grup İR'ye ait olup tümünde tübüler vakuolizasyon ile tübüler epitelin lümenine dökülmesi tespit edilirken Grup C'deki deneklerin hiçbirinde bu değişiklikler gözlemlenmedi. Benzer şekilde Grup İR'de neredeyse tamamında tübüler epitelde fırçamsı kenar kaybı görülürken Grup C ve Grup İR+C'de birer ratta bu değişiklik tespit edilmedi. Grup C ve Grup İR+C'de hiçbir ratta renal korpüskül morfolojisinde şişme ya da büzüşme görülmezken Grup İR'deki ratların yarısında bu değişiklik gözlemlenmedi. Grup C ve Grup İR+C'nin histopatolojik hasar skorları, Grup İR ile kıyaslandığında her birinin skoru anlamlı derecede düşük tespit edildi. Tüm bu değerlendirmeler sitrat uygulamasının böbrek İR hasarında böbrekler üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğunu histolojik olarak gösterdi. Aynı zamanda uyguladığımız iskemi ve reperfüzyon sürelerinin böbrekte hasar oluşturmak için yeterli olduğunu histopatolojik olarak da destekledi.

SOR, hücrel metabolizma ürünleri tarafından organizmada normalde üretilmektedir. Sitoplazmada, çekirdekte, mitokondride, lizozomlarda ve peroksizomlarda üretilen antioksidan enzimler SOR'un parçalanıp detoksifiye edilmesinden sorumludur. SOR üreten enzim sistemleri ile SOR'u detoksifiye eden antioksidan enzimler arasındaki bu hassas denge, hücrenin/organın normal yapısı ve fonksiyonu için kritiktir. İR sırasında aşırı SOR üretimi antioksidan kapasiteyi aşabilir. Bu nedenle, iskemi reperfüzyon hasarının bir sonucu olarak gözlenen antioksidan kapasitenin bozulmasının peroksizomlarda, çekirdeklerde ve sitoplazmada oksidatif stres kaynaklı hasarla sonuçlanması beklenmektedir (115). Vücuttaki oksidan ve antioksidan kapasite çeşitli ölçüm yöntemleri ile belirlenebilmektedir. Bu moleküllerin ayrı ayrı ölçümü yerine tamamının ölçümünü sağlayan yöntemler tanımlanmıştır (62,63). Çalışmamızda bu sebeple total oksidan seviyeyi (TOS), total antioksidan seviyeyi (TAS) ve bunların oranlanmasıyla elde edilen oksidatif stres indeksini (OSİ) inceledik.

Toprak ve ark. ratlarda yaptığı böbrek İR hasarı öncesinde klorojenik asit verilen gruptaki oksidatif stres belirteçleri (TOS, OSİ) diğer gruplara göre

düşük bulunmuş ve klorojenik asidin böbrek İR hasarına karşı koruyucu olabileceği düşünülmüş (13). Benzer bir çalışmada Koçak ve ark. ratlarda İR hasarında kaptopril, telmisartan ve bardoksolon metil uyguladıkları grupların TAS ve T-tiyol seviyelerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda bu tedavilerin böbrek İR hasarına karşı korucuyu olabileceğini belirtmişlerdir (116). Literatürde çeşitli moleküllerin böbrek İR hasarı üzerine etkilerinin TAS, TOS ve OSİ ile değerlendirildiği başka çalışmalar da mevcuttur (14,117). Ancak literatürde daha önce sitrat ile TAS, TOS, OSİ ilişkisinin incelendiği çalışmaya rastlamadık.

Çalışmamızdaki gruplarının TOS değerleri incelendiğinde İR hasarının TOS seviyesini anlamlı şekilde yükseltirken, sitrat uygulamasının oksidatif kapasiteyi Grup İR'ye göre önemli ölçüde azalttığını gözlemledik.

TAS değerlerine bakıldığında ise Grup İR'nin, diğer gruplara göre anlamlı şekilde antioksidan kapasitesinin azaldığı gözlemlendi. Grup İR+C'nin TAS değerinin Grup İR'ye göre anlamlı şekilde yüksek olması ise sitratın İR hasarına karşılık antioksidan kapasiteyi artırdığını göstermektedir.

OSİ değerleri çalışmamızdaki gruplar arasında istatistiksel açıdan fark göstermedi. Ancak sitrat infüzyonu uygulanan gruplarda (Grup C, Grup İR+C) OSİ değerinin rakamsal olarak düşük olması, sitratın oksidatif hasarı azalttığı yönünde değerlendirdik.

Tiyoller merkaptanlar olarak da bilinip yapısında sülfhidril (-SH) grubu içeren ve plazmadaki temel ekstrasellüler antioksidan grubu oluşturan organik bileşiklerdendir (65,66). Tiyoller, oksidan moleküllerle tepkimeye girerek reversibl disülfid bağları oluştururlar (118). Total tiyol (T-tiyol) düzeyi, Native tiyol (N-tiyol) düzeyi ve dinamik disülfid düzeylerinin toplamına eşittir. Tiyol-disülfid dengesi ve ölçüm yöntemi ilk olarak Erel Ö. ve ark. tarafından tanımlanmıştır (68). Tiyol-disülfid dengesinin akut pulmoner emboli, akut serebral iskemi ve akut miyokard enfarktüsü gibi iskemik olaylarda hasar/prognoz hakkında bilgi verebilen değerli bir parametre olduğu çeşitli yayınlarda bildirilmiştir (119-121). Ayar ve ark. ABY gelişen pediatrik hastalardaki düşük tiyol seviyelerini oksidatif stresle ilişkilendirmişlerdir (122). Otal ve ark. ise ABY'li hastaların tiyol/disülfid oranının azalarak dengenin disülfid yönüne kaydığını belirtmişlerdir. Ayrıca üre ile kreatin değerleri ve T-tiyol, N-tiyol düzeyleri arasında anlamlı derece negatif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (123). Böbrek İR hasarında sitrat

uygulamasının tiyol-disülfid dengesiyle ilişkisinin ilk defa incelendiği çalışmamızda, T-tiyol düzeylerinin en yüksek Grup S’de ve en düşük Grup İR’de olduğunu gözlemledik. İR hasarı oluşturulması ve cerrahi sürecin T-tiyol düzeyini düşürdüğü görülmektedir. Buna rağmen Grup İR+C’nin T-tiyol düzeyinin Grup İR’ye kıyasla daha yüksek olması sitratın antioksidan kapasiteyi artırdığını göstermektedir.

Grupların N-tiyol düzeyleri incelendiğinde bulgular T-tiyol düzeyleriyle paralellik gösterdiğini tespit ettik. Sham grubuna göre N-tiyol seviyeleri anlamlı derecede düşmüş olmasına rağmen Grup C ve Grup İR+C’ nin N-tiyol seviyeleri Grup İR’ ye kıyasla artmış şekilde bulduk. Benzer şekilde Grup İR+C’nin N-tiyol düzeyinin Grup C’ye kıyasla yüksek tespit edilmesi sitratın N-tiyol kapasitesini artırmış olduğunu göstermektedir.

Antioksidan kapasitenin önemli belirteçlerinden biri olan tiyol-disülfid oranlarının gruplar arasındaki düzeyine baktığımızda Grup S’ye göre yalnızca İR modeli oluşturulan gruplarda (Grup İR ve Grup İR+C) seviyenin anlamlı şekilde azalmış olduğunu gördük. Tiyol-disülfid dengesinin İR hasarı sonucu gelişen oksidatif hasarla ilişkilidir. Grup İR+C’nin tiyol-disülfid oranının, Grup İR ile kıyaslandığında anlamlı şekilde yükseldiğini gördük. Bunun yanında Grup C’deki uzun operasyon süresi ve cerrahi strese rağmen Grup S’ye kıyasla tiyol-disülfid oranının, istatistiksel olarak fark tespit edilmeden hafif düşük olarak tespit ettik. Bu bulgular sitratın İR hasarı öncesi uygulandığında tiyol/disülfid oranını artırarak antioksidan kapasiteye olumlu etkide bulunacağı görüşünü desteklemektedir.

Plazmada bulunan paraoksanaz-1 (PON-1) enzimi, lipid peroksidleri hidroliz ederek hücreleri oksidasyondan koruyan bir serum esterazdır (74,77). PON-1 enzim aktivitesi birçok hastalık ve klinik durum ile ilişkili bulunmuştur. Azalmış PON-1 aktivitesi veya polimorfizmi, iskemik inme, beyaz cevher lezyonları, amiotrofik lateral skleroz (ALS), demans ile Parkinson hastalığı gibi çeşitli nörolojik ve kardiyovasküler hastalıklarla da ilişkilendirilmiştir (124–127). Ivanišević J. ve ark. yaptığı çalışmada akut böbrek hasarı gelişen yeni doğanlarda PON-1 aktivitesinde belirgin bir azalma gözlemlenmiştir (128). Ece A. ve ark. yapmış olduğu çalışmada ise kronik böbrek yetmezliği olan hastaların paraoksanaz enzim düzeyinin kontrol grubuna göre düşük seviyede olduğu bildirilmiştir (129). Bilimsel çalışmalarda PON-1 enziminin İR hasarında sitrat kullanılmasıyla ilişkisini gösteren çalışma

bulunmamaktadır. Yapmış olduğumuz çalışmada Grup İR ve Grup İR+C'nin PON-1 seviyelerinin diğer gruplara göre düşük görülmesi böbrek İR hasarının PON-1 enzim seviyesinde azalmaya sebep olduğunu göstermektedir. Bulgularımız Nguyen SD. ve ark. (130) çalışmalarında da belirttikleri gibi PON-1 seviyesindeki düşüşe oksidatif hasarın sebep olduğu yönünde değerlendirildi. Bunun yanında çalışmamızda sitrat uygulamasıyla PON-1 enzim seviyesi arasında anlamlı korelasyon gözlemlenmedi. Daha ayrıntılı değerlendirme için ek çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

Serbest radikal hasarı, membran harabiyeti, serbest demir ve bakıra maruz kalma, asidoz ve hipoksi gibi durumlarda albüminin yapısal değişikliğe uğradığı varyanta iskemi modifiye albümin (İMA) denilmektedir (72). İMA'nın, iskeminin erken biyokimyasal bir göstergesi olabileceği ilk defa Bar-Or D. ve ark. tarafından tanımlanmıştır (89). Daha sonra yapılan çalışmalarda iskeminin ilk dakikalarında İMA'nın oluşmaya başladığı ve birkaç saat daha pozitifliğini sürdürdüğü gösterilmiştir (131). Ancak böbrek İR hasarında sitratın önkoşullayıcı özelliğinin incelenmesinde, sitratın İMA düzeyleriyle ilişkisini gösteren literatürde çalışma bulunmamaktadır. Ateş ve ark. ratlar üzerinde gerçekleştirdikleri deneysel İR hasarı çalışmasında İMA ile SOR radikalleri oluşumunu tespit edebilmek için sıcak iskemi süresi eşik değerinin 20 dk. olduğunu bildirmişlerdir. Bu sürenin uzamasıyla paralel olarak serum İMA düzeyinin artış gösterdiğini ve bu artışın histopatolojik hasar bulguları ile desteklendiğini belirtmişlerdir (132). Böbrek İR hasarı oluşturmak amacıyla 40 dk. süreyle iskemi uyguladığımız çalışmamızda İMA düzeylerini incelediğimizde sitrat uygulanan grupların İMA seviyesinin anlamlı şekilde azaldığı görüldü. Bu sebeple sitratın İR hasarına bağlı gelişen oksidatif hasarı önleyerek bu azalmada rol aldığını düşündük. Grup İR'de ise seviyenin diğer gruplara göre yükselmiş olması oksidatif hasarın İMA düzeyini artırdığını ve İR hasar belirtici olarak İMA'nın kullanılabileceği görüşünü desteklemektedir.

5.1 SONUÇ

Çalışmamızda böbreklerde oluşturduğumuz İR hasarının oksidatif hasara yol açtığını, sodyum sitrat infüzyon uygulamasının oksidatif hasarı TAS seviyesini artırıp TOS seviyesini azaltarak hafiflettiğini, tiyol/disülfid dengesine tiyoller yönünde olumlu katkıda bulunduğunu ve histopatolojik incelemelerde sitratın önkoşullayıcı etkisinin olduğunu ve böbreği İR hasarından koruduğunu gözlemledik.

Sonuç olarak sitratın böbrek İR hasarının olumsuz etkilerini azaltmada faydalı olabileceği kanısındayız.



Kaynaklar

1. Kellum JA, Lameire N, Aspelin P, Barsoum RS, Burdmann EA, Goldstein SL, et al. Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) acute kidney injury work group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Kidney International Supplements*. 2012 Mar;2(1):1–138.
2. Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nature medicine*. 2011;17(11):1391–401.
3. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Prevention of Ischemia-Reperfusion Injury. *Anesthesiology*. 2001 Jun 1;94(6):1133–8.
4. Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Acute renal failure. *Lancet*. 2005 Feb 29;365(9457):417–30.
5. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*. 1997 Mar;82(2):291–5.
6. Brandenburger T, Dimski T, Slowinski T, Kindgen-Milles D. Renal replacement therapy and anticoagulation. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2017 Sep;31(3):387–401.
7. Vincent J-L, Abraham E, Kochanek P, Moore FA, Fink MP. Textbook of Critical Care E-Book: Elsevier Health Sciences; 2011;31(5):894-901.
8. Ricci D, Panicali L, Facchini MG, Mancini E. Citrate Anticoagulation during Continuous Renal Replacement Therapy. *Contrib Nephrol*. 2017;190:19–30.
9. Bienholz A, Reis J, Sanli P, de Groot H, Petrat F, Guberina H, et al. Citrate shows protective effects on cardiovascular and renal function in ischemia-induced acute kidney injury. *BMC Nephrol*. 2017 Apr 10;18(1):130.
10. Zou C, Hu H, Xi X, Shi Z, Wang G, Huang X. Pioglitazone protects against renal ischemia-reperfusion injury by enhancing antioxidant capacity. *Journal of Surgical Research*. 2013 Oct 1;184(2):1092–5.
11. Yamamoto S, Hagiwara S, Hidaka S, Shingu C, Goto K, Kashima K, et al. The antioxidant EPC-K1 attenuates renal ischemia-reperfusion injury in a rat model. *Am J Nephrol*. 2011;33(6):485–90.

12. Kahraman A, Erkasap N, Serteser M, Köken T. Protective effect of quercetin on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *J Nephrol*. 2003 Apr;16(2):219–24.
13. Toprak T, Sekerci CA, Aydın HR, Ramazanoglu MA, Arslan FD, Basok BI, et al. Protective effect of chlorogenic acid on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Arch Ital Urol Androl*. 2020 Jun 24;92(2).
14. Sancak EB, Akbas A, Silan C, Cakir DU, Turkon H, Ozkanli SS. Protective effect of syringic acid on kidney ischemia-reperfusion injury. *Ren Fail*. 2016;38(4):629–35.
15. Gray's anatomy, 4 edisyon, Editor Susan Standring, 2008 churchill livingstone elsevier, section 8 chapter 74 1225-1242.
16. Yıldırım ,M.,2011,Tıp fakültesi Öğrencileri için Gray's Anatomi,Ankara, Elsevier Limited, syf 355-359.
17. Wein AJ. In: Campbell-Walsh Urology. 11th ed. Kavoussi L, Partin AW, Peters CA, editors. Philadelphia: Elsevier; 2016.
18. Ovalle WK, Nahirney PC. Netter's Essential Histology. Philadelphia: Saunders Elsevier.2008
19. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 3. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi; 2001.
20. Arınsoy T, Güngör Ö, Koçyiğit İ. Böbrek Fizyopatolojisi, 1.baskı. Reaktif, 2017.
21. Müftüoğlu YZ, Anafarta K. Ürogenital Sistemin Fizyolojisi. Temel Üroloji. 4. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2011. p. 27–53.
22. Guyton A, Hall J. Urine Formation by the Kidneys: I. Glomerular Filtration, Renal Blood Flow, and Their Control: Textb Med Physiol. Dokuzuncu baskı. Philadelphia, Pennsylvania: WB Saunders Company; 1996. p. 315–30.
23. Guyton CA. Tıbbi Fizyoloji. 7. B, İstanbul: Merk Yayıncılık 1987; 2: 649-664.
24. Tisher C. Structure and Function of Kidneys. Cecil Textb Med. Yirmibirinci baskı. Philadelphia, Pennsylvania: Goldman L, Bennet JC (ed). WB Saunders Company; 2000. p. 532–9.
25. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 65-83.
26. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med* 1991; 42: 225-246.

27. Green CJ, Gower JD, Healing G, Cotterill LA, Fuller BJ, Simpkin S. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. *Free Radic Res Commun* 1989;7: 255-64.
28. Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dyp Buket JM, Nicotera P. Calcium ions and oxidative cell injury. *Ann Neurol* 1992; 32 Suppl: S33- 42.
29. Kumar V, Cotran R, Robbins SL. *Basic Pathology*. 7th edition 2003: P:6- 11,531-533.
30. Kloner, R. A. and Jennings, R. B. (2001). Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 1. *Circulation*, 104: 2981-2989.
31. Akkoç H. Miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarı. *Dicle Tıp Dergisi*, 2008; 35 (3), 211-5.
32. Parks DA, Williams TK, Beckman JS. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol*. 1988 May;254(5 Pt 1):G768-74.
33. Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997 ;14: 195-203.
34. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med*. 1991 Sep 30;91(3C):14S-22S.
35. Southorn P.A., Powis G., Free radicals in medicine. 1. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin. Proc.* 63:381-389, 1988.
36. Harris E. D., Regulation of antioxidant enzymes. *FASEBS J.* 6: 2675-2683, 1992.
37. Esrefoglu M. Cell Injury and Death: Oxidative Stress and Antioxidant Defense System: Review. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 2009 Dec 1;29:1660-76.
38. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J*, 1995; 9: 526-533.
39. Esterbauer H, Koller E, Slez RG, Koster JF. Possible involvement of the lipid-peroxidation product 4-hydroxynonenal in the formation of fluorescent chromolipids. *Biochem J*. 1986 Oct 15;239(2):405-9.
40. Williams C., Metabolic aspects of exercise. *Physiology of Sports*. Edited by Reilly T., Secher N., Snell P., Williams C., 1. Edition, E&F. N.

Spon, 3-40, 1990.

41. Davies SJ, Reichardt-Pascal SY, Vaughan D, Russel GI. Differential effect of ischemia-reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney. *Exp Nephrol* 1995; 3: 348-354.
42. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*. 2008 Jun;4(2):89-96.
43. Aruoma OI, Halliwell B. Superoxide-dependent and ascorbate-dependent formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron. Are lactoferrin and transferrin promoters of hydroxyl-radical generation? *Biochem J*. 1987 Jan 1;241(1):273-8.
44. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007; 39(1): 44-84.
45. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol*. 1996 Nov;271(5 Pt 1):C1424-1437.
46. Korthuis RJ, Granger DN. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. *Clin Cardiol*. 1993 Apr;16(4 Suppl 1):I19-26.
47. Lin E, Lowry SF, Calvano SE. The Systemic Responses to Injury. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. The McGraw-Hill Companies. Yedinci baskı. USA. 1999; 1:13-32.
48. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia--reperfusion injury. *Br J Surg*. 1996 Feb;83(2):162-70.
49. García-Villalón AL, Amezcua YM, Monge L, Fernández N, Salcedo A, Diéguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascul Pharmacol*. 2008 Mar;48(2-3):109-14.
50. Ojo AO, Wolfe RA, Held PJ, Port FK, Schumouder RL. Delayed graft function: risk factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation*. 1997 Apr 15;63(7):968-74.
51. Noiri E, Gailit J, Sheth D, Magazine H, Gurrath M, Muller G, et al. Cyclic RGD peptides ameliorate ischemic acute renal failure in rats. *Kidney Int*. 1994 Oct;46(4):1050-8.
52. Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med*. 1996 May 30;334(22):1448-60.
53. Zanardo G, Michielon P, Paccagnella A, Rosi P, Caló M, Salandin V,

- et al. Acute renal failure in the patient undergoing cardiac operation: Prevalence, mortality rate, and main risk factors. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1994 Jun 1;107(6):1489–95.
54. Dobashi K, Singh I, Orak JK, Asayama K, Singh AK. Combination therapy of N-acetylcysteine, sodium nitroprusside and phosphoramidon attenuates ischemia-reperfusion injury in rat kidney. *Mol Cell Biochem*. 2002 Nov;240(1–2):9–17.
 55. Koç M, Arıkan H, Odabaşı Z. İskemik ve Toksik Akut Tübüler Nekroz Patofizyolojisi. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 2006; 15(1): 13-24.
 56. A S, Pk C, Ns P, Z T, Y H, Pa B, et al. Agonists of peroxisome-proliferator activated receptor-gamma reduce renal ischemia/reperfusion injury. *Am J Nephrol*. 2003 Jul 3;23(4):267–76.
 57. Golab F, Kadkhodae M, Zahmatkesh M, Hedayati M, Arab H, Schuster R, et al. Ischemic and non-ischemic acute kidney injury cause hepatic damage. *Kidney Int*. 2009 Apr;75(8):783–92.
 58. Sahna E, Parlakpınar H, Cihan OF, Turkoz Y, Acet A. Effects of aminoguanidine against renal ischaemia- reperfusion injury in rats. *Cell Biochem Funct*, 2004; 22.
 59. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44–84.
 60. Jacob RA. The integrated antioxidant system. *Nutrition Research*. 1995 May 1;15(5):755–66.
 61. Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004 Mar;286(3):R431-444.
 62. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005 Dec;38(12):1103–11.
 63. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*. 2004 Apr;37(4):277–85.
 64. Kosecik M, Erel O, Sevinc E, Selek S. Increased oxidative stress in children exposed to passive smoking. *Int J Cardiol*. 2005 Apr 8;100(1):61–4.
 65. Sen CK, Packer L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr*. 2000 Aug;72(2 Suppl):653S-69S.

66. Turell L, Radi R, Alvarez B. The thiol pool in human plasma: the central contribution of albumin to redox processes. *Free Radic Biol Med*. 2013 Dec;65:244–53.
67. Moran LK, Gutteridge JM, Quinlan GJ. Thiols in cellular redox signalling and control. *Curr Med Chem*. 2001 Jun;8(7):763–72.
68. Erel O, Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clin Biochem*. 2014 Dec;47(18):326–32.
69. Matteucci E, Giampietro O. Thiol signalling network with an eye to diabetes. *Molecules*. 2010 Dec 6;15(12):8890–903.
70. Go Y-M, Jones DP. Cysteine/cystine redox signaling in cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med*. 2011 Feb 15;50(4):495–509.
71. Sbarouni E, Georgiadou P, Voudris V. Ischemia modified albumin changes - review and clinical implications. *Clin Chem Lab Med*. 2011 Feb;49(2):177–84.
72. Zurawska-Plaksej E, Grzebyk E, Marciniak D, Szymańska-Chabowska A, Piwowski A. Oxidatively modified forms of albumin in patients with risk factors of metabolic syndrome. *J Endocrinol Invest*. 2014 Sep;37(9):819–27.
73. Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics*. 1996 May 1;33(3):498–507.
74. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol*. 1996 Apr;7(2):69–76.
75. Mackness B, Beltran-Debon R, Aragonés G, Joven J, Camps J, Mackness M. Human tissue distribution of paraoxonases 1 and 2 mRNA. *IUBMB Life*. 2010 Jun;62(6):480–2.
76. Li WF, Costa LG, Furlong CE. Serum paraoxonase status: a major factor in determining resistance to organophosphates. *J Toxicol Environ Health*. 1993 Nov;40(2–3):337–46.
77. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest*. 1998 Apr 15;101(8):1581–90.
78. Taylor JK, Carpio-Rivera E, Chacón-Araya Y, Grandjean PW, Moncada-Jiménez J. The Effects of Acute and Chronic Exercise on

- Paraoxonase-1 (PON1): A Systematic Review With Meta-Analysis. *Res Q Exerc Sport*. 2020 Sep 17;1-14.
79. Coca SG, Singanamala S, Parikh CR. Chronic kidney disease after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Kidney Int*. 2012 Mar;81(5):442-8.
 80. Rodrigues FB, Bruetto RG, Torres US, Otaviano AP, Zanetta DM, Burdmann EA. Incidence and mortality of acute kidney injury after myocardial infarction: a comparison between KDIGO and RIFLE criteria. *PLoS One*. 2013 Jul 23;8(7):e69998.
 81. Ashton DN, Mehta RL, Ward DM, McDonald BR, Aguilar MM. Recent advances in continuous renal replacement therapy: citrate anticoagulated continuous arteriovenous hemodialysis. *ANNA J*. 1991 Jun;18(3):263-7, 329.
 82. Ashouri OS. Regional sodium citrate anticoagulation in patients with active bleeding undergoing hemodialysis. *Uremia Invest*. 1985 1986;9(1):45-51.
 83. Flanigan MJ, Pillsbury L, Sadewasser G, Lim VS. Regional hemodialysis anticoagulation: hypertonic tri-sodium citrate or anticoagulant citrate dextrose-A. *Am J Kidney Dis*. 1996 Apr;27(4):519-24.
 84. Weinberg Jm, Venkatachalam Ma, Roeser Nf, Saikumar P, Dong Z, Senter Ra, et al. Anaerobic and aerobic pathways for salvage of proximal tubules from hypoxia-induced mitochondrial injury. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2000 Nov;279(5):F927-43.
 85. Tiranathanagul K, Jearnsujitwimol O, Susantitaphong P, Kijkriengkraikul N, Leelahavanichkul A, Srisawat N, et al. Regional citrate anticoagulation reduces polymorphonuclear cell degranulation in critically ill patients treated with continuous venovenous hemofiltration. *Ther Apher Dial*. 2011 Dec;15(6):556-64.
 86. Davenport A, Tolwani A. Citrate anticoagulation for continuous renal replacement therapy (CRRT) in patients with acute kidney injury admitted to the intensive care unit. *NDT Plus*. 2009 Dec;2(6):439-47.
 87. Tolwani AJ, Prendergast MB, Speer RR, Stofan BS, Wille KM. A practical citrate anticoagulation continuous venovenous hemodiafiltration protocol for metabolic control and high solute clearance. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006 Jan;1(1):79-87.
 88. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum

- paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet.* 1983 Nov;35(6):1126–38.
89. Bar-Or D, Lau E, Winkler JV. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-a preliminary report. *J Emerg Med.* 2000 Nov;19(4):311–5.
 90. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J Clin Invest.* 1984 Oct;74(4):1156–64.
 91. Baud L, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol.* 1986 Nov;251(5 Pt 2):F765–776.
 92. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med.* 2000 Dec 1;109(8):665–78.
 93. Oudemans-van Straaten HM, Bosman RJ, Koopmans M, van der Voort PHJ, Wester JPJ, van der Spoel JI, et al. Citrate anticoagulation for continuous venovenous hemofiltration. *Crit Care Med.* 2009 Feb;37(2):545–52.
 94. Feldkamp T, Kribben A, Roeser NF, Senter RA, Weinberg JM. Accumulation of nonesterified fatty acids causes the sustained energetic deficit in kidney proximal tubules after hypoxia-reoxygenation. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006 Feb;290(2):F465–477.
 95. Chatterjee PK. Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: a comprehensive review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2007 Oct;376(1–2):1–43.
 96. Hillegass LM, Griswold DE, Brickson B, Albrightson-Winslow C. Assessment of myeloperoxidase activity in whole rat kidney. *J Pharmacol Methods.* 1990 Dec;24(4):285–95.
 97. Novick, A. C.:Surgery of the kidney. In:Campbell’s Urology, 8th ed. Edited by P. C. Walsh, A. B. Retik, E. D. Vaughan, Jr. and A. J. Wein. Philadelphia:W. B. Saunders Co., vol. 4, sect. XIII, chapt. 102, pp. 3570 – 3643, 2002.
 98. Novick AC. Renal hypothermia: in vivo and ex vivo. *Urol Clin North Am.* 1983 Nov;10(4):637–44.
 99. Singbartl K, Ley K. Protection from ischemia-reperfusion induced severe acute renal failure by blocking E-selectin. *Crit Care Med.* 2000 Jul;28(7):2507–14.
 100. Yamaki VN, Gonçalves TB, Coelho JVB, Pontes RVS, Costa FL da S, Brito MVH. Protective effect of remote ischemic per-conditioning in the

- ischemia and reperfusion-induce renal injury in rats. *Rev Col Bras Cir.* 2012 Dec;39(6):529–33.
101. Selçuk NY, Yakan B, San A, Başoğlu M, Tonbul Z, Kızıltunç A, et al. Deneysel Sıcak Renal İskemi ve Reperfüzyonda Lipid Peroksidasyonu ve Alpha-Tocopherol Tedavisinin Değerlendirilmesi. *Türk Nefroloji Diyal Ve Transplant Derg.* 1996; (1): 5–10.
102. Damianovich M, Ziv I, Heyman SN, Rosen S, Shina A, Kidron D, et al. ApoSense: a novel technology for functional molecular imaging of cell death in models of acute renal tubular necrosis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2006 Mar 1;33(3):281–91.
103. Lieberthal W, Levine JS. Mechanisms of apoptosis and its potential role in renal tubular epithelial cell injury. *Am J Physiol.* 1996 Sep;271(3 Pt 2):F477-488.
104. Meyer F, Silva DS e, Bombonato GM, Lizana JN, Dziedricki LF, Krieger ML. Histological analysis and the blood flux in kidneys submitted to different periods of ischemia/reperfusion. *Acta Cir Bras.* 2011 Dec;26(6):451–5.
105. Kocoglu H, Ozturk H, Ozturk H, Yilmaz F, Gulcu N. Effect of dexmedetomidine on ischemia-reperfusion injury in rat kidney: a histopathologic study. *Ren Fail.* 2009;31(1):70–4.
106. Mitaka C, Si MKH, Tulafu M, Yu Q, Uchida T, Abe S, et al. Effects of atrial natriuretic peptide on inter-organ crosstalk among the kidney, lung, and heart in a rat model of renal ischemia-reperfusion injury. *Intensive Care Med Exp.* 2014 Dec;2(1):28.
107. Bienholz A, Petrat F, Wenzel P, Ickerott P, Weinberg JM, Witzke O, et al. Adverse effects of α -ketoglutarate/malate in a rat model of acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2012 Jul 1;303(1):F56–63.
108. Hetzel GR, Taskaya G, Sucker C, Hennersdorf M, Grabensee B, Schmitz M. Citrate plasma levels in patients under regional anticoagulation in continuous venovenous hemofiltration. *Am J Kidney Dis.* 2006 Nov;48(5):806–11.
109. Schneider AG, Journois D, Rimmelé T. Complications of regional citrate anticoagulation: accumulation or overload? *Crit Care.* 2017 Nov 19;21:281.
110. Fukuda T, Nakashima Y, Harada M, Toyoshima S, Koshitani O, Kawaguchi Y, et al. Effect of whole blood clotting time in rats with ionized

- hypocalcemia induced by rapid intravenous citrate infusion. *J Toxicol Sci.* 2006 Aug;31(3):229–34.
111. Liu YC, Shieh JP, Ho ST, Chang P, Tsou SS, Liu SY. Relationship between cardiovascular functions and ionic hypocalcemia induced by citrate infusion in anhepatic swines: CaCl₂ therapy in severe ionic hypocalcemia. *Proc Natl Sci Counc Repub China B.* 1992 Oct;16(4):155–61.
 112. Sener G, Sehirli AO, Keyer-Uysal M, Arbak S, Ersoy Y, Yeğen BC. The protective effect of melatonin on renal ischemia-reperfusion injury in the rat. *J Pineal Res.* 2002 Mar;32(2):120–6.
 113. Williams P, Lopez H, Britt D, Chan C, Ezrin A, Hottendorf R. Characterization of renal ischemia-reperfusion injury in rats. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 1997 Feb;37(1):1–7.
 114. Kumagai T, Nangaku M, Kojima I, Nagai R, Ingelfinger JR, Miyata T, et al. Glyoxalase I overexpression ameliorates renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2009 Apr;296(4):F912–921.
 115. Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, Singh I, Singh AK. Kidney ischemia-reperfusion: modulation of antioxidant defenses. *Mol Cell Biochem.* 2000 Feb;205(1–2):1–11.
 116. Kocak C, Kocak FE, Akcilar R, Bayat Z, Aras B, Metineren MH, et al. Effects of captopril, telmisartan and bardoxolone methyl (CDDO-Me) in ischemia-reperfusion-induced acute kidney injury in rats: an experimental comparative study. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2016 Feb;43(2):230–41.
 117. Eraslan E, Tanyeli A, Polat E, Yetim Z. Evodiamine alleviates kidney ischemia reperfusion injury in rats: A biochemical and histopathological study. *J Cell Biochem.* 2019 Oct;120(10):17159–66.
 118. Cremers CM, Jakob U. Oxidant sensing by reversible disulfide bond formation. *J Biol Chem.* 2013 Sep 13;288(37):26489–96.
 119. Topuz M, Kaplan M, Akkus O, Sen O, Yunsel HD, Allahverdiyev S, et al. The prognostic importance of thiol/disulfide homeostasis in patients with acute pulmonary thromboembolism. *Am J Emerg Med.* 2016 Dec;34(12):2315–9.
 120. Ivanov AV, Alexandrin VV, Paltsyn AA, Nikiforova KA, Virus ED, Luzyanin BP, et al. Plasma low-molecular-weight thiol/disulphide homeostasis as an early indicator of global and focal cerebral ischaemia. *Redox Rep.* 2017 Nov;22(6):460–6.
 121. Sivri S, Kasapkara HA, Polat M, Alsancak Y, Durmaz T, Erel Ö, et al.

- Dynamic thiol/disulphide homeostasis and its prognostic value in patients with non-ST elevation-acute coronary syndromes. *Kardiol Pol.* 2018;76(2):426–32.
122. Ayar G, Sahin S, Yazici MU, Neselioglu S, Erel O, Bayrakcı US. Effects of Hemodialysis on Thiol-Disulphide Homeostasis in Critically Ill Pediatric Patients with Acute Kidney Injury. *Biomed Res Int.* 2018;2018:1898671.
123. Otal Y, Demircan S, Şener A, Alisik M, Tanrıverdi F, Haydar F, et al. Acute Renal Failure and Thiol-Disulfide Homeostasis. *Journal of Nephrology & Therapeutics.* 2018 Jan 1;08.
124. Menini T, Gugliucci A. Paraoxonase 1 in neurological disorders. *Redox Rep.* 2014 Mar;19(2):49–58.
125. Hadjigeorgiou GM, Malizos K, Dardiotis E, Aggelakis K, Dardioti M, Zibis A, et al. Paraoxonase 1 gene polymorphisms in patients with osteonecrosis of the femoral head with and without cerebral white matter lesions. *J Orthop Res.* 2007 Aug;25(8):1087–93.
126. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet.* 2008 Oct 25;372(9648):1502–17.
127. Kotur-Stevuljević J, Vekić J, Stefanović A, Zeljković A, Ninić A, Ivanišević J, et al. Paraoxonase 1 and atherosclerosis-related diseases. *Biofactors.* 2020 Mar;46(2):193–205.
128. Ivanišević J, Kotur-Stevuljević J, Stefanović A, Miljković M, Jelić-Ivanović Z, Pejović B, et al. Association of paraoxonase 1 and oxidative stress with acute kidney injury in premature asphyxiated neonates. *Chem Biol Interact.* 2017 Jun 25;272:47–52.
129. Ece A, Atamer Y, Gürkan F, Davutoğlu M, Bilici M, Tutanç M, et al. Paraoxonase, anti-oxidant response and oxidative stress in children with chronic renal failure. *Pediatr Nephrol.* 2006 Feb;21(2):239–45.
130. Nguyen SD, Hung ND, Cheon-Ho P, Ree KM, Dai-Eun S. Oxidative inactivation of lactonase activity of purified human paraoxonase 1 (PON1). *Biochim Biophys Acta.* 2009 Mar;1790(3):155–60.
131. Worster A, Devereaux PJ, Heels-Ansdell D, Guyatt GH, Opie J, Mookadam F, et al. Capability of ischemia-modified albumin to predict serious cardiac outcomes in the short term among patients with potential acute coronary syndrome. *CMAJ.* 2005 Jun 21;172(13):1685–90.
132. Aytac Ates H, Yücetaş U, Erkan E, Yucetas E, Ulusoy S,

Kadihasanoglu M, et al. The Predictive Value of Ischemia-Modified Albumin in Renal Ischemia-Reperfusion Injury. Urol Int. 2019;103(4):473–81.





**T.C.
BEZMÎÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
KARAR METNİ**

SAYI: 2021/01

29.01.2021

KONU: Sn. Dr. Öğr. Üyesi Ferda YILMAZ İNAL

Sayın, Dr. Öğr. Üyesi Ferda YILMAZ İNAL

“Ratlarda Renal İskemi-Reperfüzyon Hasarında Sitratın Önkoşullayıcı Etkisinin Histopatolojik Yöntemler ve Oksidatif Stres Parametreleri ile Değerlendirilmesi” başlıklı projenize ait başvurunuz 29.01.2021 tarihinde yapılan Yerel Etik Kurul toplantısında değerlendirilmiş ve onanmıştır.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sıçan
	Sayısı	24

Prof. Dr. Fahri AKBAŞ
Etik Kurul Başkanı

Doç. Dr. Remzi DOĞAN
Üye

Doç. Dr. Bursen ELİBOL
Üye

Doç. Dr. Ömer Faruk ÖZER
Üye

Dr. Öğr. Üye. Fatemeh BAHADORİ
Üye

Dr. Öğr. Üye. Ömer UYSAL
Üye

Vet. Hek. Mert ÇELİKTEN
Üye

Serife ÇÖNÜ
Üye

Semra NİSANCİ
Üye

- Etik kurumumuzdan onam alan her proje için, çalışma başlamadan üç ay önce çalışılacak hayvan rezervinin uygunluğunu (tür, yaş, cinsiyet) belirlemek amacıyla Deney Hayvanları Laboratuvarına başvurulmalıdır.

