

## Suprarenal kros klempe bağlı oluşan renal hasarın iskemik önkoşullanma ve karnitin ile önlenmesi: Deneysel çalışma

*Prevention of renal injury due to suprarenal cross-clamping with ischemic preconditioning and carnitine: an experimental study*

Demir Çetintaş,<sup>1</sup> Atilla Aral,<sup>2</sup> Mustafa Bahadır İnan,<sup>2</sup> Bilge Ayça Karabörk Kırmızı,<sup>3</sup>  
Saba Kiremitçi,<sup>3</sup> Aslıhan Avcı,<sup>4</sup> Mustafa Şırlak,<sup>2</sup> Ahmet Rüçhan Akar<sup>2</sup>

*Araştırma yapılan kurum:*

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, Türkiye

*Yazar adresleri:*

<sup>1</sup>Uşak Devlet Hastanesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği, Uşak, Türkiye  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, <sup>2</sup>Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, <sup>3</sup>Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı,  
<sup>4</sup>Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmada, abdominal aort cerrahisi sırasında, suprarenal arterlere klempe konulmasının böbrek üzerindeki olumsuz etkileri ve önleme stratejileri araştırıldı.

**Çalışma planı:** Wistar sıçanların aortuna suprarenal bölgede klempe konularak, abdominal aortik cerrahiyi taklit eder şekilde, renal iskemi modeli oluşturuldu. İki siklus uygulanan ve 10 dk. iskemi, 10 dk. reperfüzyon şeklindeki iskemik önkoşullanma, karnitin ve iskemik önkoşullanma + karnitin protokolü uygulandı. Nefrektomi materyalleri ve serum örneklerinde histopatolojik ve biyokimyasal değişiklikler incelendi.

**Bulgular:** İskemi-reperfüzyon hasarından histopatolojik olarak ve istatistiksel yönden etkilenen bölgenin renal tübüller olduğu tespit edildi. İki siklus şeklinde 10 dk. iskemi ve 10 dk. reperfüzyon uygulamalı iskemik önkoşullanma işleminin iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesinde şüpheli olduğu bulundu. Oral karnitin renal iskemi-reperfüzyon hasarını histopatolojik olarak azaltmadığı, ancak serbest oksijen radikallerine karşı önemli bir savunma olan katalaz enzim aktivitesini dokuda belirgin biçimde artırdığı saptandı.

**Sonuç:** İskemi önkoşullanma ve karnitin, suprarenal kros-klempe gerektiren abdominal aort cerrahisi sırasında oluşabilecek renal iskemi-reperfüzyon hasarını belli oranlarda engelleyebilir.

**Anahtar sözcükler:** Karnitin; iskemi-reperfüzyon hasarı; iskemik önkoşullanma; suprarenal kros-klempe.

### ABSTRACT

**Background:** In this study, we investigated adverse effects of the clamping of suprarenal arteries on the kidney and prevention strategies during abdominal aortic surgery.

**Methods:** A renal ischemia model was created by clamping the aorta of the suprarenal region of the Wistar rats, as mimicking abdominal aortic surgery. Two cycles of ischemic preconditioning with ischemia for 10 min and reperfusion for 10 min, carnitine and ischemic preconditioning + carnitine protocols were applied. Nephrectomy materials and histopathological and biochemical changes of serum samples were examined.

**Results:** Renal tubules were the histopathologically and significantly affected regions by ischemia-reperfusion injury. It was found that the ischemic preconditioning procedure consisting of two cycles of ischemia for 10 min and reperfusion for 10 min was suspicious at preventing the reperfusion injury. Oral carnitine was unable to reduce the renal ischemia-reperfusion injury histopathologically; however, it significantly increased the tissue catalase activity.

**Conclusion:** Ischemic preconditioning and carnitine may prevent renal ischemia-reperfusion injury to a certain extent during abdominal aortic surgery requiring suprarenal cross-clamping.

**Keywords:** Carnitine; ischemia-reperfusion injury; ischemic preconditioning; suprarenal cross-clamp.



Available online at  
www.tgkdc.dergisi.org  
doi: 10.5606/tgkdc.dergisi.2016.12251  
QR (Quick Response) Code

*Geliş tarihi:* 10 Ağustos 2015 *Kabul tarihi:* 02 Şubat 2016

Yazışma adresi: Dr. Demir Çetintaş, Uşak Devlet Hastanesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği, 64200 Uşak, Türkiye.

Tel: 0276 - 224 00 00 e-posta: demircetintas@gmail.com

İskemik kalan canlı dokularda, dolaşım tekrar sağlandığında ortaya çıkan zararlı etki, iskeminin yaratıldığından daha geniş çaplı ve ciddidir. Reperfüzyon bu zararlı etkiyi, dokuda serbest radikaller oluşturarak yapar.<sup>[1]</sup> Serbest radikal toplayıcı olarak bilinen, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimler, organizmayı reperfüzyon hasarından korurlar.<sup>[1]</sup> İnfrarenal aortik anevrizma sıklıkla endovasküler greftlerle tedavi edilmekle birlikte, açık anevrizma onarımlarının büyük bölümü jukstarenal veya pararenal bölge ile ilgilidir. Bu tip hasta grubunda ve aynı şekilde eşlik eden aortoiliyak tıkaçıcı arter hastalığı olanlarda da suprarenal düzeyde kros-klemp konulması gerekli olmakta ve sonuçta böbreklerde iskemik bir periyot yaşanmaktadır.

Renal disfonksiyon suprarenal aortik rekonstrüksiyon ameliyatlarının sık bir komplikasyonu olmaya devam etmektedir.<sup>[2]</sup> Suprarenal klemp uygulaması sonrasında renal yetmezlik klemp süresine bağlı olmakla birlikte hastaların yaklaşık %20'sinde karşımıza çıkmakta, bu hastaların %3-4'ünde ise kalıcı diyaliz ihtiyacı gözlenmektedir.<sup>[3-6]</sup> Torakoabdominal anevrizma cerrahisinde, böbreklerin normotermik veya orta dereceli hipotermik kan ile veya aralıklı soğuk kristaloid ile perfüzyonunun bir veya her ikisi de çoğu merkezde rutin protokol olarak kullanılmaktadır.<sup>[7-10]</sup>

İskemik önkoşullanma (İÖ), kısa süreli iskemik süreçlerin, daha sonra oluşacak uzun süreli iskemik ve reperfüzyon hasarından organın korunmasının sağlandığı adaptif bir yanıtıdır. Pek çok organda İÖ'nün, takip eden uzun süreli iskeminin yarattığı reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir.

L-karnitin, serbest yağ asidi metabolizmasında ve glukoz oksidasyonunda önemli rol oynayan doğal bir aminoasittir. Yağ asidi metabolizması üzerine temel etkisi, serbest yağ asitlerinin mitokondri içine transportunu ve  $\beta$ -oksidasyona uğramalarını sağlamaktır. Yağ asidi mitokondrideki  $\beta$ -oksidasyonu normal erişkin kalbinde en önemli ve etkin adenozin trifosfat (ATP) üretim kaynağıdır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma, Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nca incelenmiş ve 2010-102-373 numaralı kararla "Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesi"ne uygun bulunmuştur. Çalışma Helsinki Deklarasyonu ilkeleri uyarınca gerçekleştirilmiştir.

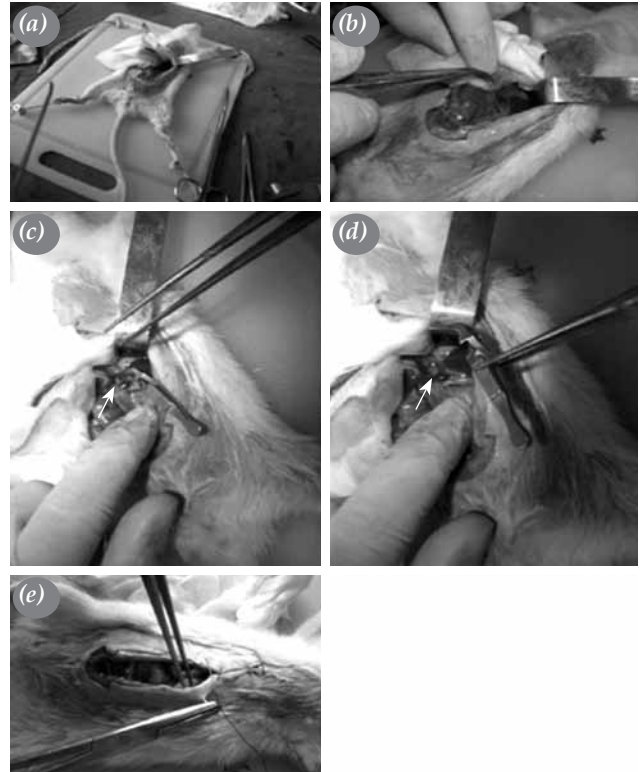
### Deney Hayvanları

Çalışmada ortalama 250-350 gr. ağırlığında 40 adet dişi Wistar albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar 21-23 °C ve %45-65 nemli ortamda muhafaza edildi. Sıçanlar her

bir grupta sekiz sıçan olmak üzere beş gruba ayrıldı. Yiyecek ve içecek kısıtlaması uygulanmayan sıçanlar standart laboratuvar pellet yemi ve çeşme suyu ile beslendi. Karnitin 15 mg/kg/gün dozunda, pellet yemlerine emdirilerek, grup 4 ve 5'teki her bir sıçana ayrı yemliklerle ameliyat öncesi yedi gün süre ile oral yoldan verildi.

### Gruplar ve cerrahi işlemler

Çalışma iki aşamalı olarak planlandı. İntramusküler yoldan uygulanan ketamin (50 mg/kg) ve xylazine (10 mg/kg) ile anestezi protokolüyle, birinci aşamada laparotomi yapıldı, abdominal aort ve renal arterler eksplore edildi. Abdominal aorta mikroklemp sol renal arterin hemen proksimalinden konuldu ve distal aorttaki nabzın yok olduğu palpasyonla tespit edilip iskemik veya İÖ işlemi (suprarenal aortun 10 dk. klemlenip 10 dk. açılması şeklindeki iki siklus) uygulandı. Böbreklerde iskemik-reperfüzyon hasarı oluşturmak için gerekli iskemik süresi, bu konuda daha önce yapılmış araştırmalar göz önünde bulundurularak saptandı.<sup>[11,12,19,20]</sup> Literatürde nefrolojik ve ürolojik çalışmalarda renal arterin direkt klemlenmesiyle elde edilen ve genelde 30-40 dk.



**Şekil 1.** Çalışmanın birinci aşaması. (a) Laparotomi, (b) abdominal aort ve renal arter orifislerinin eksplore edilmesi, (c, d) iskemik ve iskemik önkoşullanma gruplarında, Bulldog klemp ile abdominal aortun oklüde edilmesi ve açılması, (e) laparotominin kapatılması. Oklar abdominal aortu göstermektedir.

olan iske mi modelleri, abdominal aortun klemlenmesiyle böbreklere ulaşacak distal retrograd akım göz önünde bulundurularak, ayrıca söz konusu ameliyatlardaki -özellikle renal revaskularizasyon işlemleriyle- kros-klemp sürelerinin de uzun olabileceği düşünülerek, 60 dk. olarak belirlendi.

Çalışmada kullanılan 40 adet Wistar cinsi sıçan, her bir grupta sekiz sıçan olacak şekilde beş gruba ayrıldı.

1. Grup (Sham): Laparotomi yapıldı ve herhangi bir girişim yapılmadan 60 dk. sonra laparotomi kapatıldı.

2. Grup (iske mi): Laparotomi yapıldı ve suprarenal düzeyde abdominal aort klemlendi ve 60 dk. sonunda klemp kaldırılarak laparotomi kapatıldı (Şekil 1).

3. Grup (iske mik önkoşullanma + iske mi): Laparotomi yapıldı ve İÖ işle mi uygulandı, sonrasında abdominal aort klemlendi ve 60 dk. sonunda klemp kaldırılarak laparotomi kapatıldı.

4. Grup (karnitin + iske mi): Yedi gün boyunca karnitin tedavisi uygulanan sıçanlara laparotomi yapıldı ve suprarenal düzeyde abdominal aort klemlendi ve 60 dk. sonunda klemp kaldırılarak laparotomi kapatıldı.

5. Grup (karnitin + iske mik önkoşullanma + iske mi): Yedi gün boyunca karnitin tedavisi alan sıçanlara laparotomi yapıldı ve İÖ işle mi uygulandı. Sonrasında

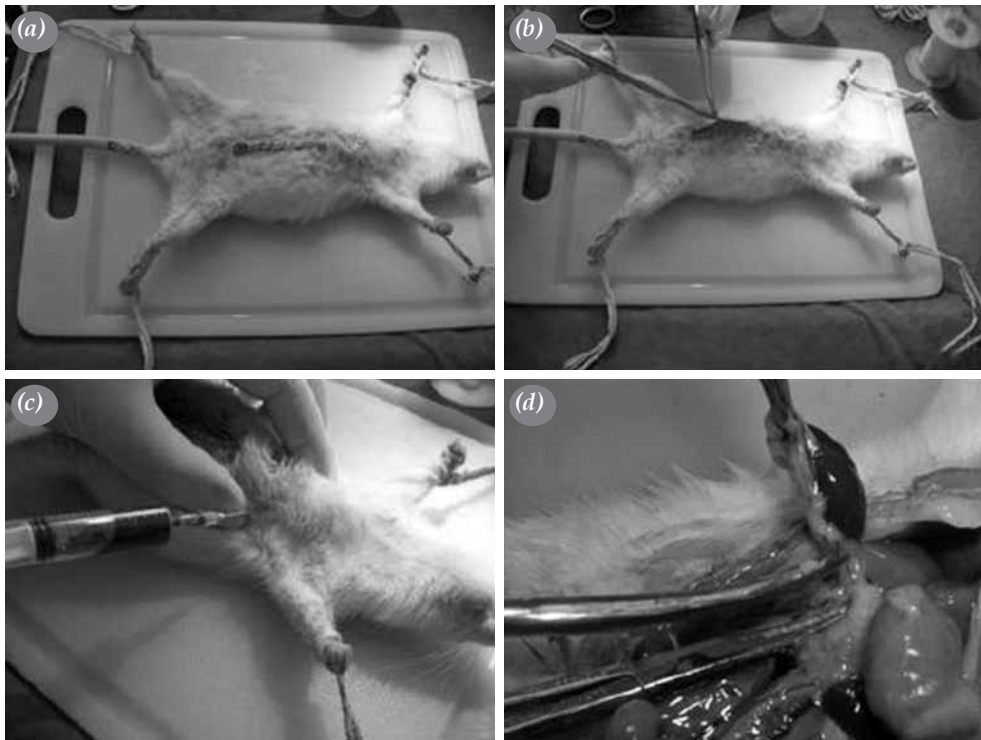
abdominal aort klemlendi ve 60 dk. sonunda klemp kaldırılarak laparotomi kapatıldı.

Yirmi dört saat sonra yapılan ikinci aşamada ise aynı aneste zik protokolün ardından tekrar laparotomi yapılarak renal hiluslar klemlendi. İki taraflı nefrektomi uygulandı. Böbreklerden biri -80 °C'de korunmak üzere biyokimya, diğeri formol çözeltisi içinde patoloji laboratuvarına gönderildi. Kalp içi serum örnekleri de alındıktan sonra sıçanlar sakrifiye edildi (Şekil 2).

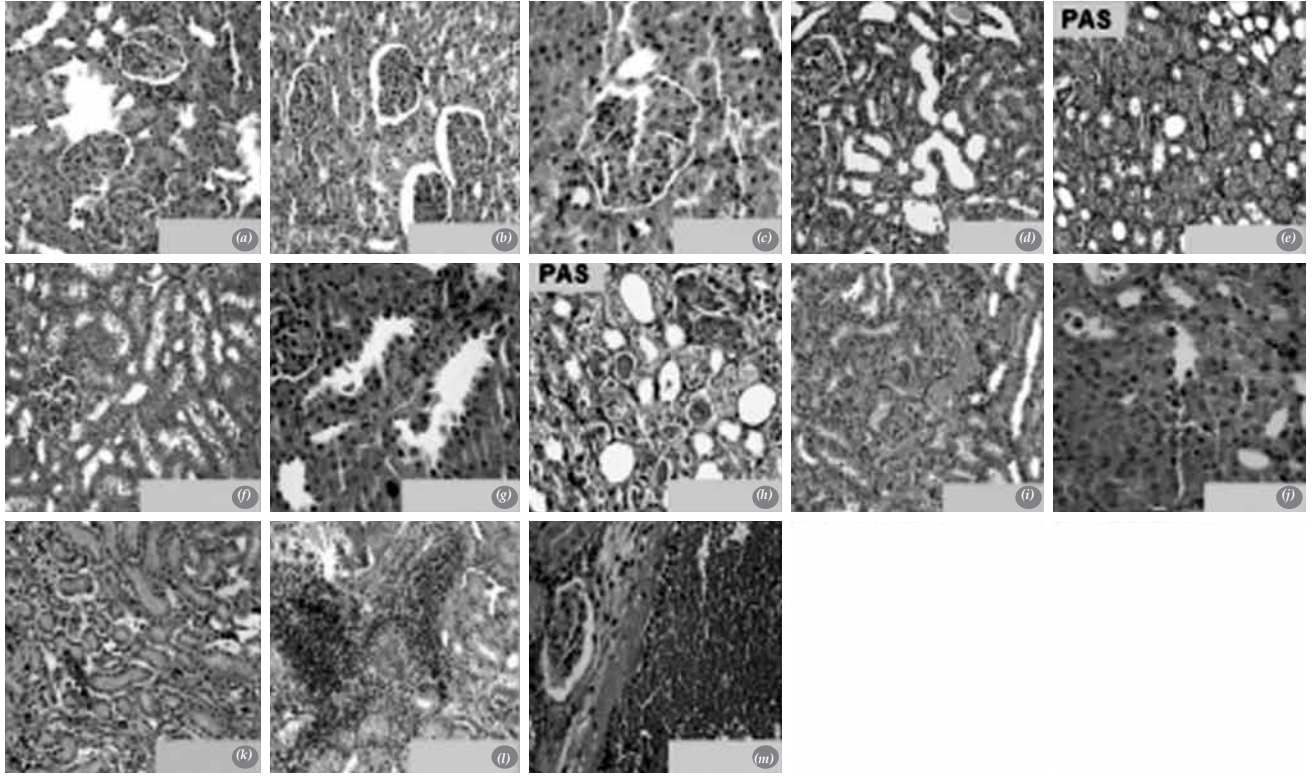
### Histopatolojik değerlendirme

Nefrektomi materyalleri %10 formol çözeltisi içinde korundu ve patoloğlar tarafından kör olarak mikroskopik değerlendirmeye alındı. Işık mikroskopik değerlendirme, parafin kesitlere uygulanan rutin Hematoksilen Eozin (H-E) ve Periodik Asit Fast (PAS) histokimyasal boyaları ile yapıldı (Şekil 3).

Glomerüller ve tübüler bulgulara göre, daha önce literatürde kullanılmış ve renal hasarla ilgili güvenilir bilgi verebilecek skorlamaları içeren kaynaklar göz önünde bulundurularak,<sup>[11-13]</sup> patoloğlar tarafından histopatolojik skorlama sistemleri oluşturuldu. Preparatlarda; glomerüller, tübüler, interstisyum ve medüller toplam skorlar hesaplandı (Tablo 1).



Şekil 2. Çalışmanın ikinci aşaması. (a, b) Tekrar laparotomi, (c) kalp içi serum örneği alınması, (d) iki taraflı nefrektomi uygulanması.



**Şekil 3.** Histopatolojik bulgular. (a-c) İskemi-reperfüzyon hasarında glomerüllerde en sık konjesyon gözlenmiş, seyrek kapiller yumak kontraksiyonu, üriner alan genişlemesi ve tek tük glomerülde nötrofil lökositler ile karakterli enflamasyon. (d-e) Tübüllerde yaygın epitel basıklaşması ve dilatasyon, fırçamsı kenar kaybı, vakuolizasyon, yer yer bleb oluşumu ve silendirler. (f, j) Tübüllerde tek hücre apoptozu yanı sıra, tüm tübülü ortadan kaldıracak ve bant oluşturacak şekilde nekroz. (k, l) İnterstisyumda ödem ve mononükleer enflamasyon. (m) Medullada çok seyrek olarak çekirdekli eritrosit.

a,b,d,e,f,i,k,l x200 büyütmede, c,g,h,j,m x400 büyütmede görüntülenmiştir. e ve h PAS ile, diğer kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyanmıştır.

### Biyokimyasal değerlendirme

Serum ve nefrektomi örnekleri -80 °C'de muhafaza edildi. Spektrofotometrik yöntemle serumda ksantin oksidaz (KO) ve malondialdehit (MDA) düzeyleri, doku örneklerinde ise KO, MDA, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz ve katalaz aktivitelerine bakıldı.

### İstatistiksel analiz

Doku materyallerine mikroskopik olarak verilen tüm skorlar glomerüler, tübüler, interstisyel ve medüller kategorilerinde toplandı. Her gruba ait toplam skorların median ve standart sapmaları Windows için SPSS 15.0 versiyon (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak, nonparametrik Kruskal-Wallis çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanıldı ve  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. Biyokimyasal göstergelerin median ve standart sapmaları nonparametrik Kruskal-Wallis çoklu karşılaştırma testiyle karşılaştırıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanıldı ve  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.

### BULGULAR

#### Histopatolojik bulgular

Analiz sonucunda tübüler, glomerüler, interstisyel ve medüller skorlar göz önünde bulundurulduğunda, böbrekte iskemik reperfüzyon (İR) hasarından istatistiksel yönden en çok tubulusların etkilendiği görüldü ( $p < 0.05$ ) (Şekil 4).

Her ne kadar İÖ uygulanmasıyla, iskemik ve İÖ + iskemik grubu arasında tübüler skor yönünden fark oluşmuyorsa da ( $p = 0.208$ ), sham grubuyla İÖ + iskemik grubu arasında da anlamlı farkın bulunmaması ( $p = 0.106$ ) İÖ'nün histopatolojik düzeyde iskemik kadar zarar vermediği anlamında yorumlandı. Karnitin ise İÖ ile beraber olduğunda iskemik tübüler hasar skorunu azaltıyor (iyileştiriyor) gibi gözükse de fark istatistiksel yönden anlamlı bulunmadı ( $p = 0.908$  ve  $p = 0.467$ ) (Şekil 4).

#### Biyokimyasal bulgular

İstatistiksel olarak fark anlamlı gözükme de, iskemik, serum MDA düzeylerini artırmış gözükmekteydi

**Tablo 1. Histopatolojik skorlamalar**

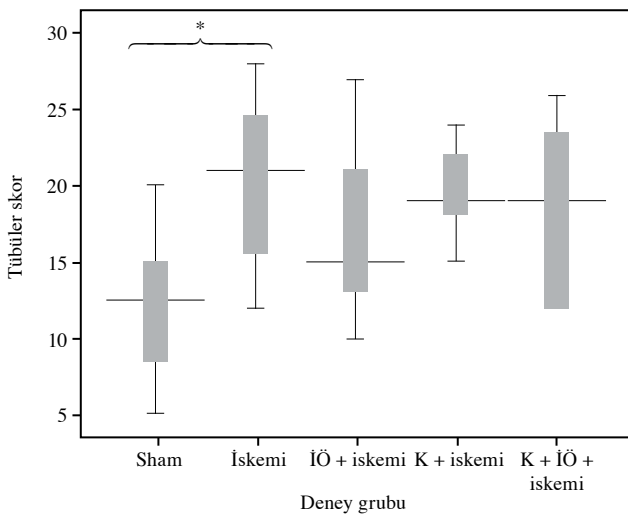
0 Puan	1 Puan	2 Puan	3 Puan	4 Puan	5 Puan
Castlerin dağılımına göre nekroz için yapılan Jablonski skoruna benzer skorlama	Cast yok	Tek tek, dağınık görülen castler	Proksimal kıvrıntılı tübüllerde grup halinde görülen castler	Distal 1/3'lük kısımdaki proksimal kıvrıntılı tübüllerde iç kortekse ilerleyecek şekilde devamlılık halinde gözlenen castler	Proksimal kıvrıntılı tübüllerin her üç segmentinde de castlerin izlenmesi
Tübülepitel hücrelerindeki nekrozun tipine göre skorlama	Nekroz yok	Apoptoz	Lümeneye dökülme	Apoptoz ve lümeneye dökülmenin her ikisi de var	Proksimal kıvrıntılı tübüllerin her üç segmentinin de nekrozu
Tübülepitel hücrelerindeki nekrozun şiddeti (Jablonski Gradeleme Skoru)	Nekroz yok	Proksimal kıvrıntılı tübülede tek tek hücre nekrozları	Proksimal kıvrıntılı tübülepitel hücrelerinin tümünün nekrozu, çevreleyen tübüller sağlam görünümde	Distal 1/3'lük kısımdaki proksimal kıvrıntılı tübüllerin iç kortekse ilerleyecek şekilde bant şeklindeki nekrozu	
İnteristiyumda enflamasyonun tipine göre skorlama	İnteristiyel enflamasyon yok	Mononükleer tipte enflamasyon var	Mikst tipte enflamasyon var		
Histopatolojik bulguların yaygınlığına göre yapılan skorlama sistemi	Değişiklik yok	Tübüllerin/ glomerüllerin/ İnteristiyumun/ Medullanın <%25'nin altında bir oranda değişiklik var	Tübüllerin/ glomerüllerin/ interistiyumun/ Medullanın %25-50'si arasında bir oranda değişiklik var	Tübüllerin/ glomerüllerin/ interistiyumun/ Medullanın %50-75'i arasında bir oranda değişiklik var	Tübüllerin/ glomerüllerin/ interistiyumun/ Medullanın >%75'in üzerinde bir oranda değişiklik var

( $p=0.086$ ). Karnitinin ilave edilmesiyle birlikte MDA düzeyleri İÖ + iskemi grubunda yükseldi ( $p=0.015$ ) ancak kontrol grubuyla eş median değerine ulaştığından deneysel anlamda anlamlı bulunmadı (Şekil 5).

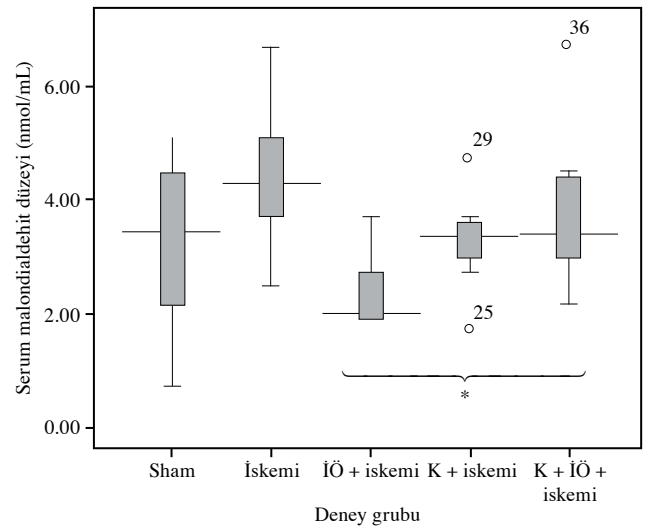
Dokudaki katalaz aktivitesi, 60 dk'lık iskemi sonrasında azaldı ( $p=0.013$ ), İÖ uygulanması katalaz miktarı yönünden bu azalmaya çözüm olamadı ( $p=0.036$ ). Ancak karnitin ilavesiyle iskemi nedeniyle azalmış olan katalaz hem sadece iskemi yapılan hem de İÖ yapılan grupta anlamlı şekilde arttı (sırasıyla,  $p=0.001$  ve  $p=0.001$ ). Karnitin ilavesinin katalazı kontrol düzeyine

yaklaştırıp iyileştirici bir etki yaratmış olabileceği düşünüldü (Şekil 6).

Süperoksit dismutaz da yine iskemide düşüş gösterdi ve karnitin ilavesi SOD düzeylerini bir miktar artırdı. İskemik önkoşullanma protokolünün SOD'yi artırdığı görüldü. Glutasyon peroksidaz (GP) da katalaz gibi iskemide düştü. İskemik önkoşullanmada iskekiye kıyasla GP düzeyi biraz daha yükseldi ve karnitin ilavesi GP'yi artırdı.

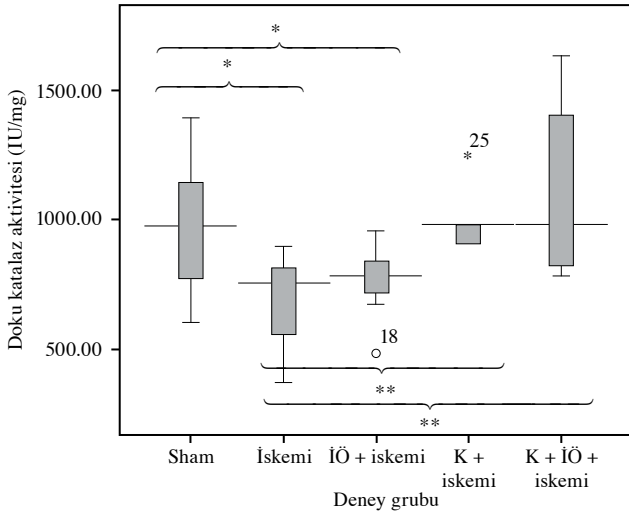
**Şekil 4.** Tübül skorlarının deney gruplarına göre dağılımı.

\*:  $p<0.05$ ; K: Karnitin; İÖ: İskemik önkoşullanma.

**Şekil 5.** Serum malondialdehit düzeylerinin deney gruplarına göre değişimi.

\*:  $p<0.05$ ; K: Karnitin; İÖ: İskemik önkoşullanma.





**Şekil 6.** Doku katalaz aktivitesinin deney gruplarına göre değişimi.

\*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p = 0.001$ ; K: Karnitin; İÖ: İskemik önkoşullanma.

Çalışmamızda, karnitin verilmesiyle KO'nun bir miktar düştüğü görüldü. İskemik önkoşullanma + iske mi grubunda istatistiksel anlamsız da olsa KO'nun artmasının nedeni, iske mi protokolünün dokuda oluşturduğu aşırı derecedeki oksidatif strese bağlandı (Tablo 2, Şekil 7).

## TARTIŞMA

Suprarenal kros klemp gerektiren aortik onarımlarda ameliyat sonrası renal fonksiyon bozukluğu halen önemli bir ameliyat sonrası morbidite nedeni olmaya devam etmektedir. Akut böbrek yetmezliği insidansı %35'e kadar çıkmaktadır. Endovasküler yöntemlerin daha sık kullanılmaya başlamasıyla, açık kros-klemp gereksinimi azaldıysa da jukstarenal patolojilerde çoğu zaman açık cerrahi işlem tercih edilmektedir.

Giulini ve ark.<sup>[14]</sup> elektif abdominal aort anevrizma onarımı yaptıkları 7534 hastalık bir çalışmada, 56 hastaya suprarenal kros klemp koyduklarını, ortalama renal iske mi sürelerinin 20 dk. olduğunu ve suprarenal kros klemp gerektiren grupta sekiz hastada (%14) renal fonksiyon bozukluğunun görüldüğünü bildirmişlerdir. İnfrarenal kros klemp konulan hastalarda renal fonksiyon bozukluğu gözlenmezken, fonksiyon bozukluğu görülen sekiz hastadan birinde kalıcı diyaliz ihtiyacından bahsetmişlerdir. Wahlberg ve ark.<sup>[15]</sup> ise abdominal aort anevrizması veya tıkaçıcı aort hastalığı nedeniyle suprarenal kros klemp koydukları 60 hastalık çalışmalarında renal fonksiyon kaybını %23 olarak belirlemişlerdir. Ayrıca klemp zamanının 50 dk'nın üzerine çıktığı durumlarda renal disfonksiyon riskinin 10 kat arttığını belirlemişlerdir.

Reperfüzyon hasarının en önemli nedeni, artan serbest radikallerin plazma ve organel membranları üzerinde başlattıkları lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu sırasında, karbon bağlarının kopması ile aldehit yapısında yıkım ürünleri ortaya çıkar. Bu ürünlerden en önemlisi MDA'dır.<sup>[16,17]</sup> Çalışmamızda, İÖ + iske mi grubunda serum MDA seviyelerinin, iske mi grubuna göre anlamlı düşük olmasının, yaratılan hasarın daha az olmasından değil, oluşan MDA'nın, sık reperfüzyon nedeniyle metabolize olması sebebiyle olduğunu düşünmekteyiz.

İskemik önkoşullanma, ilk olarak 1986 yılında Murry ve ark.<sup>[18]</sup> tarafından 'kalp dokusunda gösterilen ve bir dokunun ciddi iske mi periyodu öncesinde kısa süreli iske mi-reperfüzyon periyotlarına maruz bırakılarak, uzamış iske mi ve reperfüzyonun zararlı etkilerine karşı dirençli kılınması' şeklinde tanımlanan bir fenomendir.

Ulus ve ark.nın<sup>[19]</sup> yaptıkları bir deneysel çalışmada, torakoabdominal aort cerrahisinde kros klemp bağlı oluşan visceral organ iskemisinin uzak veya direkt İÖ ile önlenilebileceği gösterilmiştir. Çalışmalarında kullandıkları İÖ işlemi üç siklus olmak üzere 5 dk. klemp ve 5 dk. reperfüzyon şeklinde olup, iske mi süresi ise 30 dk.'dır. Riera ve ark.nın<sup>[20]</sup> sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, renal arterler diseke edildikten sonra dört ayrı İÖ grubu belirlenmiş ve her gruba tek siklus olmak üzere birinci gruba 5 dk. iske mi, 10 dk. reperfüzyon, ardından 40 dk. iske mi, ikinci gruba 10 dk. iske mi, 10 dk. reperfüzyon, ardından 40 dk. iske mi, üçüncü gruba 15 dk. iske mi, 10 dk. reperfüzyon, ardından 40 dk. iske mi, dördüncü gruba 20 dk. iske mi, 10 dk. reperfüzyon, ardından 40 dk. iske mi uygulanmış, yedi gün izlenen sıçanlardan daha sonra renal biyopsiler ve serum örnekleri alınmıştır. Çalışma sonunda histopatolojik olarak 15 dk. İÖ uygulanan grupta en az, iske mi grubunda ise en fazla tübülointerstisyel hasara rastlanmıştır. Çalışmamızdaki iske mi zamanının 60 dk. olması, İÖ + iske mi grubunda cerrahi işlemin 100 dk.'dan daha uzun sürmesiyle sonuçlandı. Ayrıca çalışma, sıçanların uzun süre anestezi alıp, hipotermik yönden de zarar görmüş olma olasılıklarını düşündürmekteydi. Nitekim çalışmanın ikinci aşamasına ulaşamayan 10 deneğimiz genelde çalışmanın ilk deneklerindendi. Laboratuvarın ısı koşullarının manipülasyonu sonrasında mortalite azaldı. Söz konusu bu 10 denekte yapılan postmortem incelemelerde iki denekte mezenterik yatakta makroskopik olarak iske mi bulguları saptandı. İskemik önkoşullanma protokolümüz bu anlamda, amacını tehlikeli biçimde aşarak, süre veya siklus sayısı yönünden deneklere ciddi bir oksidatif darbe vurmuş olabileceğini düşündürmekteydi.

**Tablo 2. İstatistiksel değişim göstermeyen verilerin sayısal değerleri**

	Ort.±SS	Medyan
Ksantin oksidaz (serum) (mIU/mL)		
Sham	389.6±109.1	432.00
İskemi	430.8±61.8	446.00
İskemik önkoşullanma + iskemi	420.0±83.4	443.00
Ksantin oksidaz + iskemi	470.3±64.5	480.00
Ksantin oksidaz + iskemik önkoşullanma + iskemi	400.4±62.7	402.00
Ksantin oksidaz (doku) (mIU/mg)		
Sham	30.2±8.7	30.65
İskemi	36.8±8.2	37.40
İskemik önkoşullanma + iskemi	42.7±7.6	42.70
Ksantin oksidaz + iskemi	36.4±3.6	35.20
Ksantin oksidaz + iskemik önkoşullanma + iskemi	35.2±4.1	35.30
Malondialdehit (doku) (nmol/kg)		
Sham	0.5±0.3	0.45
İskemi	0.5±0.3	0.43
İskemik önkoşullanma + iskemi	0.4±0.3	0.31
Ksantin oksidaz + iskemi	0.5±0.4	0.28
Ksantin oksidaz + iskemik önkoşullanma + iskemi	0.4±0.2	0.37
Süperoksit dismutaz (doku) (U/mg)		
Sham	4.7±0.9	4.51
İskemi	4.5±1.1	4.34
İskemik önkoşullanma + iskemi	5.8±1.7	5.72
Ksantin oksidaz + iskemi	5.3±1.3	5.49
Ksantin oksidaz + iskemik önkoşullanma + iskemi	4.5±1.5	4.50
Glutasyon peroksidaz (doku) (U/mg)		
Sham	0.0±0.0	0.02
İskemi	0.0±0.0	0.01
İskemik önkoşullanma + iskemi	0.0±0.0	0.02
Ksantin oksidaz + iskemi	0.0±0.0	0.02
Ksantin oksidaz + iskemik önkoşullanma + iskemi	0.0±0.0	0.02

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma.

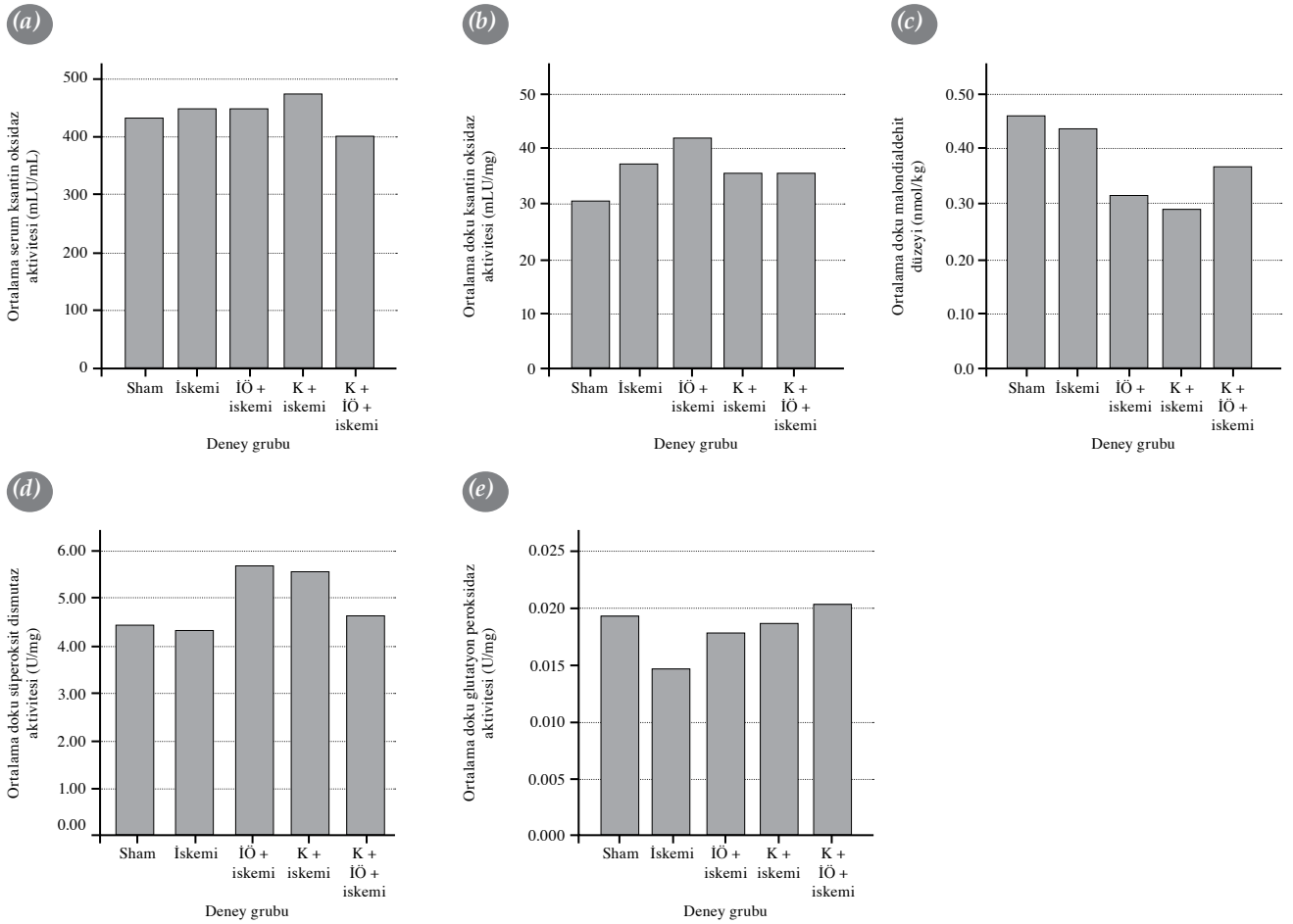
Turman ve Bates<sup>[21]</sup> yaptıkları bir çalışmada, kültür ortamında üretilen insan tübüler epitelyum hücrelerinin hücresel düzeyde hipoksiye verdiği yanıtı incelemiştir. Bu çalışma sonucunda kendi ürettikleri tübüler epitelyum hücrelerinin de bu yönden glomerüler hücrelerle benzer sonuçları olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da patolojik skor ortalamalarına bakıldığında, istatistiksel anlamlı farkın sadece tübüler hücrelerin skor dağılımlarında olduğu görülmektedir. Bizim çalışmamızda Sham grubuyla İÖ + iskemi grubu arasında da anlamlı farkın bulunmaması (p=0.106), İÖ'nün histopatolojik düzeyde iskemi kadar zarar vermediği anlamında yorumlanabilir (Şekil 4).

Ksantin oksidaz düzeyleri normalde iskemik doku da dakikalar içinde artmaktadır. Bizim çalışmamızda serum örneklerinde, istatistiksel anlamlı olmamakla beraber grafiksel bir artış söz konusudur. Bunun nedeni

24 saat sonra alınmış serum örneklerinde bu enzimin bir miktar metabolize edilmiş olması olabilir (Şekil 7).

Çalışmamızda ayrıca, iskemik kalan dokuyu koruma potansiyeli olan karnitin de oral yoldan verilerek ameliyat sonrası renal disfonksiyon önlenmeye çalışıldı. Levokarnitinin birincil biyolojik görevi hücrede yağ asitlerini mitokondriyal membrana taşımaktır. Bu molekül aynı zamanda asetil koenzim A-serbest koenzim A arasındaki hassas hücresel ve mitokondriyal dengeyi sağlar. Bu da piruvat dehidrogenaz aktivitesini stimüle ederek piruvatın oksidasyonunu artırır.<sup>[22]</sup>

Karnitin, amino asit metabolizmasında da yer alır ve hücre membranının stabilizasyonunda rol oynar. Vücutta çok dar sınırlar içerisinde tutulması gereken karnitinin eksikliği, kardiyomyopati, ensefalopati, kas güçsüzlüğü ve hatta tedavi edilmediği takdirde erken yaşta ölüme ilgilidir.



**Şekil 7.** İstatistiksel anlam içermeyen biyokimyasal göstergelerin deney gruplarına göre ortalama dağılımları. (a) Ortalama serum ksantin oksidaz aktivitesi. (b) Ortalama doku ksantin oksidaz aktivitesi. (c) Ortalama doku malondialdehit düzeyi. (d) Ortalama doku süperoksit dismutaz aktivitesi. (e) Ortalama doku glutatyon peroksidaz aktivitesi.

K: Karnitin; İÖ: İskemik önkoşullanma.

Berkan ve ark.nın<sup>[23]</sup> yaptıkları bir çalışmada ise infrarenal aortun tıkanmasıyla açığa çıkan akciğer hasarının karnitin ile önlenildiği gösterilmiştir. Literatürde, böbrekteki İR hasarına karşı karnitinin etkisinin araştırıldığı pek çok çalışma olmakla birlikte, karnitinin böbrek üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalar genelde karnitin metabolizması ve renal atılım üzerine yoğunlaşmıştır. Çift-kör kontrollü çalışmalar göstermiştir ki, levokarnitin tedavisi diyaliz sırasındaki hipotansif atakları ve kas kramplarının insidansını azaltmakta,<sup>[24,25]</sup> kardiyak aritmileri<sup>[26]</sup> önlemektedir.

Bizim çalışmamızdaki deney hayvanlarında karnitin kullanılması, İR hasarına karşı dokuda katalazın yükselmesine neden olarak hem sadece iskemi yapılan grupta hem de İÖ ardından iskemi uygulanan grupta, dokuda katalaz aktivitesini artırdı. Ayrıca karniti-

nin istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte serumdaki ksantin oksidaz düzeylerini kısmen azalttığı görüldü. Bu durumun da İR hasarından korunmada bir olumlu faktör olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak, suprarenal düzeyde aortik kros klem-pin gerekli olduğu durumlarda, ameliyat sonrası renal disfonksiyonu önlemek amacıyla günümüzde pek çok yöntem ve cerrahi teknik uygulanmaktadır. Bu yöntemlerin en büyük amacı iskemi süresini kısa tutarak serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve dolayısıyla reperfüzyon hasarını önlemektir. Çalışmamız, böbrekte 24 saat sonunda, iskemiye maruz kalıp, anlamlı istatistiksel veri ortaya çıkartan tek alanın tubuluslar olması nedeniyle, iskemi reperfüzyon hasarından histopatolojik olarak en çok bu bölgenin etkilendiğini göstermektedir. Mekanik olarak, iki siklus şeklinde 10 dk. iskemi ve 10 dk. reperfüzyon uygulamalı iskemik önkoşullanma



işleminin, sonrasındaki 60 dk. süren uzun iskemi süresi de düşünüldüğünde iskemi reperfüzyon hasarını azaltmadaki başarısı şüphelidir. Bu işlemin gerek cerrahi süresini uzatması nedeniyle, gerekse daha önce böbrekte yapılan diğer iskemik önkoşullanma çalışmalarında kullanılan işlemler göz önünde bulundurulduğunda, iskemi reperfüzyon hasarını optimal düzeyde engellediği konusu tartışmalıdır. Optimal renal korumayı sağlamak amacıyla siklus, iskemi ve reperfüzyon sürelerini inceleyen daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu görüşündeyiz.

Çalışmamız, karnitinin oral yoldan kullanılmasıyla, renal iskemi reperfüzyon hasarını histopatolojik olarak azaltmadığını ancak dokuda serbest oksijen radikallerine karşı önemli bir savunma mekanizması olan katalaz enzim aktivitesini anlamlı biçimde artırarak fonksiyonel yönden renal hasara karşı bir çözüm olabileceğini düşündürdü. Daha önce miyokard ve iskelet kası üzerine iskemi reperfüzyon hasarı yönünden olumlu etkileri olduğu gösterilen karnitinin, bu çalışmayla gösterilmiş olan potansiyel olumlu renal etkisinin, gelecekte benzer çalışmalara da öncülük yapacağını düşünmekteyiz.

#### Çıkar çakışması beyanı

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çakışması olmadığını beyan etmişlerdir.

#### Finansman

Yazarlar bu yazının araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

#### KAYNAKLAR

1. Zimmerman BJ, Granger DN. Mechanisms of reperfusion injury. *Am J Med Sci* 1994;307:284-92.
2. Sasaki T, Ohsawa S, Ogawa M, Mukaida M, Nakajima T, Komoda K, et al. Postoperative renal function after an abdominal aortic aneurysm repair requiring a suprarenal aortic cross-clamp. *Surg Today* 2000;30:33-6.
3. Ockert S, Schumacher H, Böckler D, Malcherek K, Hansmann J, Allenberg J. Comparative early and midterm results of open juxtarenal and infrarenal aneurysm repair. *Langenbecks Arch Surg* 2007;392:725-30.
4. Chiesa R, Marone EM, Brioschi C, Frigerio S, Tshomba Y, Melissano G. Open repair of pararenal aortic aneurysms: operative management, early results, and risk factor analysis. *Ann Vasc Surg* 2006;20:739-46.
5. West CA, Noel AA, Bower TC, Cherry KJ Jr, Gloviczki P, Sullivan TM, et al. Factors affecting outcomes of open surgical repair of pararenal aortic aneurysms: a 10-year experience. *J Vasc Surg* 2006;43:921-7.
6. Kudo FA, Nishibe T, Miyazaki K, Murashita T, Yasuda K, Ando M, et al. Postoperative renal function after elective abdominal aortic aneurysm repair requiring suprarenal aortic cross-clamping. *Surg Today* 2004;34:1010-3.
7. Coselli JS. The use of left heart bypass in the repair of

- thoracoabdominal aortic aneurysms: current techniques and results. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2003;15:326-32.
8. Köksoy C, LeMaire SA, Curling PE, Raskin SA, Schmittling ZC, Conklin LD, et al. Renal perfusion during thoracoabdominal aortic operations: cold crystalloid is superior to normothermic blood. *Ann Thorac Surg* 2002;73:730-8.
9. Safi HJ, Miller CC, Huynh TT, Estrera AL, Porat EE, Winnerkvist AN, et al. Distal aortic perfusion and cerebrospinal fluid drainage for thoracoabdominal and descending thoracic aortic repair: ten years of organ protection. *Ann Surg* 2003;238:372-80.
10. Svensson LG, Coselli JS, Safi HJ, Hess KR, Crawford ES. Appraisal of adjuncts to prevent acute renal failure after surgery on the thoracic or thoracoabdominal aorta. *J Vasc Surg* 1989;10:230-9.
11. Rhoden EL, Rhoden CR, Lucas ML, Pereira-Lima L, Zettler C, Belló-Klein A. The role of nitric oxide pathway in the renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Transpl Immunol* 2002;10:277-84.
12. Ateş E, Genç E, Erkasap N, Erkasap S, Akman S, Firat P, et al. Renal protection by brief liver ischemia in rats. *Transplantation* 2002;74:1247-51.
13. Rasoulian B, Mohammadhosseniakbari H, Kadkhodae M, Mofid M, Baqeri G, Bigdeli MR, et al. Preconditioning with oxygen attenuates rat renal ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 2008;146:282-8.
14. Giulini SM, Bonardelli S, Portolani N, Giovanetti M, Galvani G, Maffei R, et al. Suprarenal aortic cross-clamping in elective abdominal aortic aneurysm surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2000;20:286-9.
15. Wahlberg E, Dimuzio PJ, Stoney RJ. Aortic clamping during elective operations for infrarenal disease: The influence of clamping time on renal function. *J Vasc Surg* 2002;36:13-8.
16. İşlekel H, İşlekel S, Güner G. Biochemical mechanism and tissue injury of cerebral ischemia and reperfusion. Available from: <http://med.ege.edu.tr/norolbil/2000/NBD09200.html>.
17. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995;41:1819-28.
18. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986;74:1124-36.
19. Ulus AT, Yavas S, Sapmaz A, Sakaoğullari Z, Simsek E, Ersoz S, et al. Effect of conditioning on visceral organs during indirect ischemia/reperfusion injury. *Ann Vasc Surg* 2014;28:437-44.
20. Riera M, Herrero I, Torras J, Cruzado JM, Fatjo M, Lloberas N, et al. Ischemic preconditioning improves postischemic acute renal failure. *Transplant Proc* 1999;31:2346-7.
21. Turman MA, Bates CM. Susceptibility of human proximal tubular cells to hypoxia: effect of hypoxic preconditioning and comparison to glomerular cells. *Ren Fail* 1997;19:47-60.
22. Bremer J. Carnitine--metabolism and functions. *Physiol Rev* 1983;63:1420-80.

23. Berkan Ö, Yıldız E, Güneç F, Katrancıoğlu N, Günay İ, Doğan K. The effect of pentoxifylline, carnitine and ascorbid acid on improvement of lung injury caused by ischemia-reperfusion. *Türk Gogus Kalp Dama* 2002;10:92-5.
24. Bellinghieri G, Savica V, Mallamace A, Di Stefano C, Consolo F, Spagnoli LG, et al. Correlation between increased serum and tissue L-carnitine levels and improved muscle symptoms in hemodialyzed patients. *Am J Clin Nutr* 1983;38:523-31.
25. Ahmad S, Robertson HT, Golper TA, Wolfson M, Kurtin P, Katz LA, et al. Multicenter trial of L-carnitine in maintenance hemodialysis patients. II. Clinical and biochemical effects. *Kidney Int* 1990;38:912-8.
26. Suzuki Y, Narita M, Yamazaki N. Effects of L-carnitine on arrhythmias during hemodialysis. *Jpn Heart J* 1982;23:349-59.