

DENEYSSEL AORTİK İSKEMİ-REPERFÜZYON MODELİNDE RENAL HASARA GADOLİNYUM KlorürÜN ETKİSİ

THE EFFECT OF GADOLINIUM CHLORIDE ON RENAL INJURY IN THE MODEL OF EXPERIMENTAL AORTIC ISCHEMIA-REPERFUSION

Dr. İlker Kiriş*, Dr. Hüseyin OKUTAN*, Dr. Çağrı SAVAFİ**, Dr. Zafer YÖNDEN***, Dr. Namık DELBAĞİ***

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, *Kalp ve Damar Cerrahisi ABD., **Çocuk Cerrahisi ABD.,

***Biyokimya ABD., Isparta.

Özet

Amaç: Bu deneysel çalışmanın amacı, rat infrarenal aort iskemisi-reperfüzyon modelinde, böbreklerde oluşacak iskemisi-reperfüzyon hasarının, böbrek dokusunda antioksidan enzim düzeylerini ölçerek saptamak ve bu hasara gadolinium klorür (GdCl₃)'ün etkisini araştırmaktır.

Yöntem: Otuz iki adet rat, eşit sayıda (n = 8) ve rast gele olarak dört deney grubundan birine dahil edildi: SHAM (sham laparotomi), SHAM + KHB (sham laparotomi ve Kupffer hücre blokajı), AİR (aortik iskemisi reperfüzyon), AİR + KHB (aortik iskemisi-reperfüzyon ve Kupffer hücre blokajı). Deneyden 24 saat önce GdCl₃ verilerek Kupffer hücre blokajı oluşturuldu. AİR grubunda, infrarenal aortaya mikrovasküler klemp konularak 30 dakika iskemisi ve klemp kaldırılarak 60 dakika reperfüzyon yaratıldı. Ratlar kurban edildi ve böbrekleri çıkarıldı. Böbrek dokusunda miyeloperoksidaz (MPO), süperoksit dismutaz (SOD) katalaz (KAT) aktiviteleri ve malondialdehit (MDA) düzeyi ölçüldü.

Bulgular: Diğer üç grup ile karşılaştırıldığında, AİR grubuna ait MPO, SOD, KAT aktiviteleri ve MDA düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti (p < 0.05). GdCl₃ ile Kupffer hücre blokajı yapılan AİR+KHB grubu, AİR grubu ile karşılaştırıldığında ise, AİR+KHB grubuna ait MPO, SOD, KAT aktiviteleri ve MDA düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulundu (p < 0.05).

Sonuç: GdCl₃ kullanarak Kupffer hücre blokajı oluşturulan ratlarda infrarenal AİR sonucunda böbreklerde oluşan uzak organ hasarı azalmaktadır. (Damar Cer Der 2005;14(2):13-18).

Anahtar Kelimeler: infrarenal aort; iskemisi-reperfüzyon; gadolinium klorür, Kupffer hücreleri; böbrek

Abstract

Purpose: The aim of the present study was to examine the effect of gadolinium chloride (GdCl₃) on aortic occlusion-reperfusion induced remote organ injury in kidney by assaying antioxidant enzymes in the kidney tissues.

Methods: Thirty-two rats were randomly allocated to four groups as follows: SHAM (sham laparotomy), SHAM + KCB (sham laparotomy + Kupffer cell blockage), AIR (aortic ischemia reperfusion) and AIR + KCB (aortic ischemia reperfusion + Kupffer cell blockage). GdCl₃ was given 24 hours prior to experiment. An atraumatic microvascular clamp was placed across the infrarenal abdominal aorta (IAA) just after its origin from the aorta for 30 minutes. The microvascular clamp on the IAA was removed and reperused for 60 minutes. Kidney malondialdehyde (MDA) level and myeloperoxidase (MPO), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities were assayed in the kidney tissues.

Results: MDA level and MPO, SOD and CAT activities in the AIR group were significantly higher than that in the other groups (p < 0.05). When compared to AIR group, KCB with GdCl₃ significantly decreased MDA level and MPO, SOD and CAT activities in the AIR + KCB group (p < 0.05).

Conclusion: This experimental study showed that Kupffer cell blockage with GdCl₃ attenuates ischemia-reperfusion injury in kidney induced by infrarenal aortic occlusion-reperfusion. (Turkish J Vasc Surg 2005;14(2):13-18).

Keywords: Infrarenal aorta; ischemia-reperfusion; gadolinium chloride, Kupffer cells; kidney

İlker KIRIŞ

Çiğdem Mh. 1106 S. No: 9,

Kat: 2, 32300, Isparta

Tel : 0 246 2231495

Faks : 0 246 2326280

E-mail : kirisilker@yahoo.com

GİRİŞ

Abdominal aort cerrahisinde, ameliyat sonrası dönemde önemli bir mortalite nedeni olan böbrek yetmezliği en sık rastlanan komplikasyonlardan birisidir⁽¹⁾. Renal disfonksiyon etyolojisinde, aortik kros klemp ve iskemi-reperfüzyon hasarı önemli bir yer tutar⁽²⁾. Aortanın klemplenmesi iskemi oluşturunca, aortik kros klempin kaldırılması sonrası, alt ekstremitelere dolaşımın ani olarak yeniden sağlanması reperfüzyon hasarını başlatır ve bu fenomen iskemi reperfüzyon hasarı olarak tanımlanır⁽³⁾. Aortik iskemi reperfüzyon (AİR) hasarı sırasında serbest oksijen radikallerinin, sistemik vazokonstriktörlerin salınması ve nötrofillerin aktivasyonu, böbrekle birlikte birçok organda uzak doku hasarına yol açmaktadır⁽³⁾.

Karaciğer, retiküloendotelial sistem (RES) aktivitesinin gerçekleştirildiği başlıca anatomik bölgedir ve vücuttaki toplam RES fonksiyonunun yaklaşık %80'inden sorumludur⁽⁴⁾. Kupffer hücreleri, karaciğerde yer alan makrofaj hücreleridir. Hepatik iskemi reperfüzyon hasarı patogeneğinde, aktive olmuş Kupffer hücrelerinden ve endotelial hücrelerden salınan mediatörler anahtar bir role sahiptir⁽⁵⁾. Gadolinium chloride (GdCl₃) Kupffer hücre fonksiyonunun inhibe etmektedir ve karaciğer transplantasyonunda iskemi-reperfüzyon hasarı nedeni greft disfonksiyonunu önlediği bildirilmektedir⁽⁶⁾. Ayrıca, GdCl₃ ile Kupffer hücre blokajının, intestinal iskemi-reperfüzyonun indüklediği akut akciğer hasarını azalttığı, merkezimizden yapılan bir çalışmada gösterilmiştir⁽⁷⁾.

GdCl₃'ün, Kupffer hücre blokajı yoluyla, aortik iskemi reperfüzyon sonrası akciğerde uzak organ hasarını azaltıcı etkisi de, merkezimizden yapılan bir diğer çalışmada daha önce bildirilmiştir⁽⁸⁾. Bu deneysel çalışmanın amacı, rat infrarenal aort iskemi-reperfüzyon modelinde, böbreklerde oluşacak iskemi-reperfüzyon hasarını, böbrek dokusunda antioksidan enzim düzeylerini ölçerek saptamak ve bu hasara GdCl₃'ün etkisini araştırmaktır.

HASTALAR ve YÖNTEM

Üniversite hayvan laboratuvarından elde edilen, her iki cinsten, ağırlıkları 200-250 g arasında olan 32 adet Wistar-Albino cinsi rat çalışmaya alındı. Ratların tutulduğu kafeslerde ışık ve aydınlık-karanlık döngülerinin kontrolü sağlandı. Deneyden 12 saat önce, su hariç beslenmeleri durduruldu. Tüm ratların bakım, Tıbbi Araştırmalar Ulusal Derneği tarafından biçimlendirilen 'Deney Hayvanlarının Bakım Prensipleri'ne ve Laboratuvar Hayvan Kaynakları Enstitüsü tarafından hazırlanıp Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından yayınlanan (NIH başm no.85-23, 1985 revize edildi) 'Laboratuvar Hayvanlarının Bakım ve Kullanımı' için Kılavuz'una uygun olarak yapıldı. Çalışma protokolü ve deneysel metod Süleyman Demirel Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onaylandı.

Aortik İskemi-Reperfüzyon Tekniği

Deneyden 24 saat önce, 10 mg/kg dozda GdCl₃ (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) intravenöz yolla verilerek Kupffer hücre blokajı yapıldı. Deney başlangıcında, intramusküler enjeksiyonla, 50 mg/kg dozda ketamine hydrochloride verilerek anestezi sağlandı ve bir ışık lambası altında ratlara supin pozisyon verildi. Cilt aseptik olarak hazırlandı ve orta hattın laparotomi yapıldı. Sıvı dengesini korumak amacıyla, 10 ml, büyük serum fizyolojik peritoneal boşluğa verildi. Islak gaz ile barsaklar sola çekilerek abdominal aortaya ulaşıldı. İnfrarenal abdominal aortaya (İAA) travmatik olmayan bir mikrovasküler klemp (vascu-stats II, midi straight 1001-532; Scanlan Int., St. Paul, MN, USA) konuldu. Işık ve sıvı kaybını en az miktara indirmek için batın insizyonu kapatıldı. Otuz dakika sonra batın açılarak İAA'daki mikrovasküler klemp kaldırıldı ve 60 dakika süreyle reperfüzyon sağlandı. Reperfüzyon sonrası, tüm ratlar anestezi altında kurban edildi ve böbrekleri abdomenden çıkartıldı. Böbrekler, biyokimyasal incelemeler yapılmaya kadar -78°C'de saklandı. Aynı zaman diliminde, laparotomi sonrası İAA diseksiyonu yapılp İAA okluzyonu yapılmayan ratlar (sham) deney için kontrol grubu olarak kabul edildi.

Deney Modeli

Ratlar, efit sayı da (n = 8) ve rast gele olarak dört deney grubundan birine dahil edildi:

Grup 1 (SHAM): Laparotomi ve <AA diseksiyonu yapıldı ancak <AA oklüzyonu yapılmadı.

Grup 2 (SHAM + KHB): Sham laparotomi ve Kupffer hücre blokajı yapıldı.

Grup 3 (A<R): Aortik iskemi reperfüzyon yapıldı.

Grup 4 (A<R + KHB): Aortik iskemi-reperfüzyon ve Kupffer hücre blokajı yapıldı.

Biyokimyasal İşlemler

Dondurulmuş böbrek doku örneklerinin aşırı olarak ölçüldü ve buz banyosunda, %0.05 sodium azide içeren 100 mmol/L fosfat tamponu (pH 7.4) içinde homojenize edildi (Ultra Turrax T25, Almanya) (1:10, w/v). Homojenat 30 dakika süreyle sonike edildi (Bandelin, Almanya) ve ardından santrifüj edildi (10 dakika boyunca 5000 g). Elde edilen süpernatantlar, biyokimyasal incelemeler için kullanılabılır kadar -78°C' de saklandı. Süpernatantın protein içeriği Lowry yöntemi ile saptandı⁽⁹⁾.

Malondialdehit Ölçümü

Reperfüzyon süreci sonunda artan serbest radikal yapının bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyleri, Draper ve Hadley'in çift sırtma yöntemi ile saptandı⁽¹⁰⁾. Yöntemin temeli, tiobarbituric asidin (TBA) MDA ile reaksiyonu sırasında oluşan rengin spektrofotometrik ölçümüdür. Bu amaçla, her bir santrifüj tüpünde, 0.5 ml süpernatana 100 g/L trichloroacetic asitten 2.5 mL eklendi ve tüpler 15 dakika süreyle kaynatılmalı su banyosuna konuldu. Tüpler, musluk suyunda soğutulduktan sonra, 10 dakika boyunca 1000 g hızda santrifüj edildi. Bir test tüpünde, 2 mL süpernatant 1 mL 6.7 g/L TBA solusyonuna eklendi ve tüp 15 dakika süreyle kaynatılmalı su banyosuna konuldu. Solusyon musluk suyunda soğutulduktan sonra 532 nm'de bir spektrofotometre (Shimadzu UV-1601) kullanılarak absorbans ölçüldü. MDA konsantrasyonu, MDA-TBA kompleksinin ekstinksiyon katsayısı kullanılarak hesaplandı (ekstinksiyon katsayısı $\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$) ve (nmol/mg protein) olarak ifade edildi.

Myeloperoksidaz Aktivitesi Ölçümü

Dokuda poli morfo nükleer lökosit (PMNL) birikiminin hassas bir göstergesi olan myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi, myeloperoksidazın katalize ettiği, H_2O_2 bağını tetrametylbenzidine oksidasyonu kullanılarak saptandı⁽¹¹⁾. Böbrek örnekleri 1 g olarak tartıldı ve %0.5 hexadecyltrimethylammonium bromide (Sigma, USA) ile 9 ml 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 6) içine koyuldu. Örnekler, buz banyosunda 20 saniye süreyle homojenize edildi (Ultra-Turrax T25, Almanya). Homojenat 30 saniye süreyle sonike edildi (Bandelin Sonopuls UW 2070, Almanya) ve 4°C' de, 12000 g hızla, 15 dakika süreyle santrifüj edildi. MPO aktivitesi 460 nm'de absorbansta oluşan deşifliklik ölçülerek saptandı. Kullanılan tampon içeriğinde, 50 mM potasyum fosfat, pH 6.0 (50 ml), 0.38 ml H_2O_2 (%0.3 solusyon; Sigma, USA) ve 8.34 mg 0-dianisidine hydrochloride (Sigma, USA) vardı. Süpernatant 1:80 (süpernatant:tampon) oranında karıştırıldı. MPO birimi $\Delta\text{A}/\text{dakika}/\text{g}$ doku olarak ifade edildi.

Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Ölçümü

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, Spitz ve Oberley (12) ve Woolliams'a⁽¹³⁾ ait yöntemler kullanılarak ölçüldü. SOD aktivitesinin tayini, 2-(4-iodofenol)-3-(4-nitrofenol) -5-feniltetrazoliumklorid ile reaksiyona girerek kırmızı bir formazan boya oluşturan süperoksit radikallerini üreten ksantin ksantin oksidaz reaksiyonu temel alınarak yapıldı. SOD aktivitesi bu reaksiyonunun inhibisyon derecesi olarak saptandı. Sonuçlar (U/mg protein) olarak ifade edildi.

Katalaz Aktivitesi Ölçümü

Katalaz (KAT) aktivitesi, Aebi'nin yöntemine göre ölçüldü⁽¹⁴⁾. Bu yöntemin prensibi, hidrojen peroksidin (H_2O_2) parçalanma hızının hız sabitinin (s^{-1} , k) belirlenmesi esasına dayanır. Hız sabiti, $k = (2.3/\Delta t)(a/b) \log (A_1/A_2)$ formülü kullanılarak hesaplandı. Formülde; A_1 : 0. saniye, A_2 : 15. saniye absorbans değerlerini, a: dilusyon faktörü, b: süpernatantın protein içeriğini göstermektedir. Sonuçlar, (k/mg protein) olarak ifade edildi.

İstatistiksel Analiz

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma (S.S.) olarak sunuldu. Gruplar arasındaki farklar tek yönlü ANOVA ve post hoc Tukey'in honestly anlamlı fark testi kullanılarak saptandı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi. İstatistiksel analiz için SPSS (SPSS 10.01, SPSS Inc. Chicago, IL, USA) bilgisayar programı kullanıldı.

BULGULAR

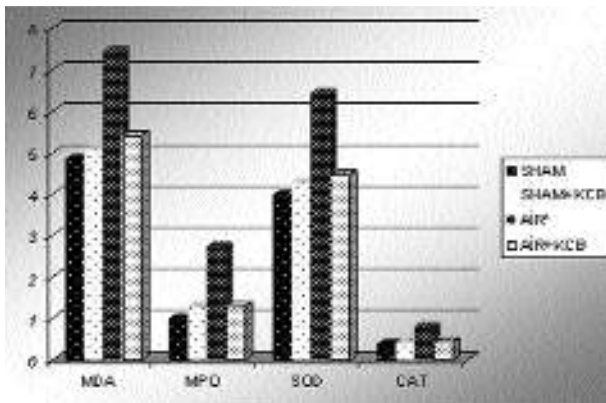
Böbrek örneklerinde, her bir grup için, MPO (ΔA /dakika/g doku), SOD (U/mg protein) ve KAT (k/mg protein) aktiviteleri ve MDA (nmol/mg protein) düzeyleri tablo 1 ve grafik 1'de verilmektedir. Üç gruba (SHAM, SHAM+KHB ve AİR+KHB) ait olan MPO,

Tablo 1: Biyokimyasal inceleme sonuçları.

KHB: Kupffer hücre blokajı, AİR: Aortik iskemi reperfüzyon, MDA: Malondialdehide (nmol/mg protein), MPO: Myeloperoksidaz (ΔA /dakika/g doku), SOD: Süperoksit dismutaz (U/mg protein), CAT: Katalaz (k/mg protein)

* $p < 0.05$ (diğer gruplarla karşılaştırıldığında)

Gruplar (n = 8)	MDA (nmol/mg protein)	MPO (ΔA /dakika/g doku)	SOD (U/mg protein)	CAT (k/mg protein)
SHAM	4.83 $\pm$ 0.42	0.99 $\pm$ 0.27	3.96 $\pm$ 0.39	0.37 $\pm$ 0.96
SHAM + KHB	5.06 $\pm$ 0.25	1.26 $\pm$ 0.27	4.26 $\pm$ 0.26	0.39 $\pm$ 0.82
AİR	7.43 $\pm$ 0.35*	2.72 $\pm$ 0.24*	6.42 $\pm$ 0.29*	0.79 $\pm$ 0.51*
AİR + KHB	5.42 $\pm$ 0.23	1.29 $\pm$ 0.25	4.47 $\pm$ 0.37	0.43 $\pm$ 0.85

**Grafik 1:** SHAM: Sham laparotomi,

KHB: Kupffer hücre blokajı,

AİR: Aortik iskemi reperfüzyon,

MDA: Malondialdehide (nmol/mg protein),

MPO: Myeloperoksidaz (ΔA /dakika/g doku),

SOD: Süperoksit dismutaz (U/mg protein),

CAT: Katalaz (k/mg protein)

* $p < 0.05$ (diğer gruplarla karşılaştırıldığında).

SOD, KAT aktiviteleri ve MDA düzeyleri birbiri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$). AİR grubu diğer üç grup ile karşılaştırıldığında, AİR grubuna ait MPO, SOD, KAT aktiviteleri ve MDA düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti ($p < 0.05$). $GdCl_3$ ile Kupffer hücre blokajı yapılan AİR+KHB grubu, AİR grubu ile karşılaştırıldığında ise, AİR+KHB grubuna ait MPO, SOD, KAT aktiviteleri ve MDA düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulundu ($p < 0.05$). Bunun yanında, AİR+KHB grubuna ait MPO, SOD, KAT aktiviteleri ve MDA düzeyi kontrol grubu (SHAM) ile karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

Aort cerrahisi sonrası gelişen böbrek yetmezliğinin patogeneğinde AİR hasarının önemli bir rolü vardır⁽²⁾. Bu deneysel çalışmada, $GdCl_3$, Kupffer hücre blokajı oluşturarak, rat infrarenal AİR modelinde, böbreklerde oluşan iskemi reperfüzyon hasarını azaltıldığı bulundu. Çalışmamızda, $GdCl_3$ ile Kupffer hücre blokajı, infrarenal aortik oklüzyon-reperfüzyon sonrası, rat böbreklerinde, MPO, SOD, KAT aktiviteleri ve MDA düzeyini istatistiksel olarak anlamlı derecede düşürmüştür.

AİR hasarı oluşumunda, serbest oksijen radikalleri önemli bir yer tutar^(15,16). Moleküler oksijenin hücre içinde oksidatif enzimler tarafından indirgenmesi ile serbest oksijen radikalleri oluşturulur. En önemli üç serbest oksijen radikali; süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil iyonlarıdır ($OH^\cdot$). Süperoksit radikali, normal hücre metabolizmasında, mitokondrial, endoplazmik retiküler ve nükleer membran elektron transport sistemlerinde oluşan bir ara üründür. İskemik kofullarda ise, hipoksantin ve ksantin katabolizması sırasında ksantin oksidaz enziminin katalize ettiği bir reaksiyonla oluşur⁽¹⁷⁾. Süperoksit radikalinden, SOD enziminin katalizlediği bir reaksiyonla H_2O_2 oluşur. H_2O_2 de, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri ile H_2O ve C_2O' e dönüştürülerek inaktive edilir. SOD, KAT ve glutatyon peroksidaz, serbest oksijen radikallerine karşı önemli

hücre içi enzimatik savunma sistemleridir. Çalışmamızda, AİR grubuna ait SOD ve KAT aktiviteleri diğer üç gruba karşılaştırıldığında anlamlı derecede daha yüksek bulundu (Tablo 1). Bununla ilgili olarak, dokuda SOD ve KAT düzeylerinin ölçülmesi inaktive edilen serbest oksijen radikali miktarına ilişkin fikir verebilir.

Serbest oksijen radikalleri aracılığıyla oluşan lipid peroksidasyonu, hücre membran hasarının önemli bir nedenidir, membran geçirgenliğini etkileyerek hücre içinde Ca^{+2} birikmesine yol açar^(18,19). Hücre membran disfonksiyonu da, hücre flümesi ve hücre ölümü ile sonuçlanır. MDA, lipid peroksidasyonunda bir son üründür ve oksidatif hasarın düzeyini göstermede kullanılmaktadır^(20,21,22). Çalışmamızda, AİR grubuna ait MDA düzeyi diğer üç gruba karşılaştırıldığında anlamlı derecede daha yüksek bulundu (tablo 1). MDA düzeyleri ile lipid peroksidasyonunun doğru orantılı olması beklenbilir.

Nötrofil infiltrasyonunun, barsak, kalp, beyin, karaciğer ve böbrek gibi birçok organda AİR hasarının oluşumunda anahtar role sahip olduğu düşünülmektedir^(4,23). MPO aktivitesi, poli morfo nükleer lökosit (PMNL) infiltrasyonunun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır⁽²⁴⁾. AİR hasarı sırasında MPO düzeyleri, oluşan PMNL infiltrasyonu nedeniyle artabilir. Biz de, AİR grubuna ait MPO düzeylerini diğer üç gruba göre anlamlı derecede yüksek bulduk.

Bu çalışmada, AİR grubunda, MPO, SOD, KAT aktiviteleri ve MDA düzeyinin anlamlı derecede yüksek olması, infrarenal AİR sonrası renal hasar oluşumu sırasında serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonu ve nötrofil infiltrasyonunda artışını düşündürmektedir. AİR + KHB grubunda, AİR grubuna göre, MPO, SOD, KAT aktiviteleri ve MDA düzeyinin anlamlı derecede daha düşük olması ise, GdCl₃ ile Kupffer hücre blokajının, serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonu ve nötrofil infiltrasyonunda azalma yoluyla infrarenal AİR sonrası renal hasarı azaltması ile açıklanabilir.

Kupffer hücreleri, karaciğerde yer alan makrofaj hücreleridir. Kupffer hücreleri, PMNL ve endotel hücrelerinin aktivasyonu, hepatik AİR hasarı

patogeneğinde kritik basamaklardır⁽²⁵⁾. Hepatik AİR sonrası erken dönemde aktive olan Kupffer hücrelerinden, serbest oksijen radikalleri, interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) salgınlmaktadır^(26,27). İkinci hasar fazında ise, Kupffer hücrelerinden salgılanan proinflamatuvar sitokinlerin nötrofil aracılığıyla doku hasarı gelişiminde önemli olduğu düşünülmektedir^(27,28). Kupffer hücreleri AİR hasarı sırasında oksidan stresin önemli bir kaynağıdır, ise, Kupffer hücrelerinin fonksiyonlarının durdurulması AİR hasarının azaltılabilir. Mosher ve ark., GdCl₃ ile Kupffer hücre blokajının deneysel karaciğer AİR modelinde karaciğer hasarının azalttığına bildirimiştir⁽²⁷⁾. Ayrıca, GdCl₃ ile Kupffer hücre blokajı yolu ile, AİR sonrası uzak doku hasarının önlenebileceği de öne sürülebilir. GdCl₃ ile Kupffer hücre blokajının, intestinal iskemi-reperfüzyonun indüklediği akut akciğer hasarının azalttığı da gösterilmiştir⁽⁷⁾. Ancak, GdCl₃ ile Kupffer hücre blokajının, infrarenal aortik iskemi reperfüzyon sonrası renal hasara olan etkisi henüz araştırılmamıştır. Çalışmamız, GdCl₃'ün, deneysel infrarenal aortik okluzyon-reperfüzyon modelinde uzak organ AİR hasarının azalttığına gösteren ilk çalışma olması açısından önemlidir.

TNF- α ve IL-6, intestinal AİR sonrası akciğer hasarına yol açan inflamatuvar yanıta temel sitokinlerdir⁽⁷⁾. Bu sitokinlerin, AİR'a bağlı uzak organ hasarı sırasında önemli iflevi vardır. Hepatik AİR sırasında da, erken dönemde Kupffer hücrelerinden TNF- α ve IL-6 salgındığı bilinmektedir⁽²⁷⁾. Bununla ilgili olarak, GdCl₃ ile Kupffer hücre blokajının, Kupffer hücreleri tarafından dolaşıma salgılanan proinflamatuvar sitokinlerin miktarının azaltarak, böbrekleri AİR'a bağlı AİR hasarından koruduğunu düşünüyoruz.

İskemi sırasında adenosin trifosfat (ATP) düzeyleri azalır, adenosin monofosfat (AMP) düzeyleri artar. AMP katabolize olarak adenosin, inozin ve hipoksantin oluşumunu sağlar. Hipoksantin ve ksantin de, ksantin oksidaz enziminin katalize ettiği bir reaksiyonla O₂⁻ oluşturur. Ksantin oksidaz (XO), iskemik dokuda serbest radikal oluşumu sürecinde temel role sahiptir. Ayrıca, postiskemik reperfüzyon hasarında önemli bir faktör

olduğu gösterilmiştir⁽²⁹⁾. Vega ve ark. tarafından yapılan bir deneysel çalışmada, iskemik kalan ekstremiteden reperfüzyon sırasında salınan XO'nun karaciğer tarafından dolaşımdan alındığı, Kupffer hücre ve PMNL aktivasyonuna aracılık ettiği ve bu yolla uzak organ hasarının oluflumuna katkıda bulunduğunu desteklemektedir⁽³⁰⁾. İnfernal aorta okluzyon-reperfüzyon modelinde de alt ekstremitede iske mi reperfüzyonu olmaktadır. GdCl₃ ile Kupffer hücre blokajı, R'a uşramı alt ekstremitelerden kaynaklanan XO'nun, Kupffer hücrelerini aktive etmesini ve sonuçta renal hasar oluflurmasını engellemiştir. Sonuç olarak, bu deneysel çalışmada göstermiştir ki, GdCl₃, Kupffer hücre blokajı oluflurarak, rat infernal A-R modelinde, böbreklerde oluflan iske mi reperfüzyon hasarının azaltır. Bunun yanında, A-R sonrası uzak organ hasarına ilişkin mekanizmalar hala tam olarak anlaşılmamıştır. Bu hasarın azaltmaya yönelik daha ileri tedavi yaklaşımları geliştirebilmek için yeni klinik ve deneysel çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

- Joyce M, Kelly C, Winter D et al. Pravastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, attenuates renal injury in an experimental model of ischemia-reperfusion. *Journal of Surgical Research* 2001; 101: 79-84.
- Gelman S. The pathophysiology of aortic cross-clamping and unclamping. *Anesthesiology* 1995;82:1026-1060.
- Pararajasingam R, Weight SC, Bell PRF et al. Prevention of renal impairment following aortic cross-clamping by manipulation of the endogenous renal nitric oxide response. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2000;19:396-399.
- Sakamoto N, Sun Z, Brengman M et al. Hepatic reticuloendothelial system dysfunction after ischemia-reperfusion: Role of P-selectin-mediated neutrophil accumulation. *Liver Transplantation* 2003;9:940-948.
- Frankenberg M, Weimann J, Fritz S et al. Gadolinium chloride-induced improvement of postischemic hepatic perfusion after warm ischemia is associated with reduced endothelin secretion. *Transplant International* 2005;18:429-436.
- Chung KY, Jeong GY, Choi KB et al. Prevention of primary nonfunction after canine liver allotransplantation: The effect of gadolinium chloride. *Transplantation Proceedings* 2004;36:1928-1930.
- Savas MC, Ozguner M, Ozguner IF et al. Splenectomy attenuates intestinal ischemia-reperfusion-induced acute lung injury. *J Pediatr Surg* 2003;38:1465-70.
- Okutan H, Savas C, Ozguner IF et al. Lung injury after aortic occlusion-reperfusion in rats: the role of gadolinium chloride. *Tohoku J Exp Med* 2004;203:267-273.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-275.
- Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990;186:421-431.
- Tullis MJ, Brown S, Gewertz BL. Hepatic influence on pulmonary neutrophil sequestration following intestinal ischemia-reperfusion. *J Surg Res* 1996;66:143-146.
- Spitz DR, Oberley LW. An assay for superoxide dismutase activity in mammalian tissue homogenates. *Anal Biochem* 1989;179:8-18.
- Wooliams JA, Wiener G, Anderson PH et al. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood in various breed crosses of sheep. *Research in Veterinary Sciences* 1983;34:253-256.
- Aebi Y. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984;105:12-126.
- Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984;222: 1-15.
- Traystman RJ, Kirsch JR, Koehler RC. Oxygen radical mechanisms of brain injury following ischemia and reperfusion. *J Appl Physiol* 1991; 71: 1185-1195.
- Vento AE, Ramo OJ, Nemlander AT et al. Nitecapone is of benefit to functional performance in experimental heart transplantation. *Res Exp Med* 1997;197:137-146.
- Folden DV, Gupta A, Sharma AC et al. Malondialdehyde inhibits cardiac contractile function in ventricular myocytes via a p38 mitogen-activated protein kinase-dependent mechanism. *Br J Pharmacol* 2003; 139:1310-1316.
- Kacmaz A, Polat A, User Y et al. Octreotide improves reperfusion-induced oxidative injury in acute abdominal hypertension in rats. *Journal of Gastrointestinal Surgery* 2004; 8: 113-119.
- Okutan H, Savas C, Delibas N. The antioxidant effect of melatonin in lung injury after aortic occlusion-reperfusion. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery* 2004; 3: 519-522.
- Bozkurt A.K. Deneysel iske mi-reperfüzyon hasarının önlenmesinde pentoksifillinin rolü. *Damar Cerrahi Dergisi* 2001; 3: 101-104.
- Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB et al. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry* 1997; 43: 1209-1214.
- Suleiman M, Cury PM, Pestana JOM et al. FTY 720 prevents renal T-cell infiltration after ischemia/reperfusion injury. *Transplantation Proc* 2005; 37: 373-374.
- Chatterjee PK, Todorovic Z, Sivarajah A et al. Inhibitors of calpain activation (PD150606 and E-64) and renal ischemia-reperfusion injury. *Biochemical Pharmacology* 2005; 69: 1121-1131.
- Kupiec-Weglinski JW and Busuttil RW. Ischemia and reperfusion injury in liver transplantation. *Transplantation Proceedings* 2005; 37: 1653-1656.
- Sindram D, Porte RJ, Hoffman MR et al. Synergism between platelets and leukocytes in inducing endothelial cell apoptosis in the cold ischemic rat liver: a Kupffer cell-mediated injury. *The FASEB Journal* 2001; 15: 1230-1232.
- Mosher B, Dean R, Harkema J et al. Inhibition of Kupffer cells reduced CXC chemokine production and liver injury. *J Surg Res* 2001; 99: 201-210.
- Jaeschke H and Farhood A. Kupffer cell activation after no-flow ischemia versus hemorrhagic shock. *Free Rad Biol Med* 2002; 33: 210-219.
- Yamazaki I, Soma T, Ichikawa Y et al. Usefulness of allopurinol for prevention of myocardial reperfusion injury in open heart surgery. *Nippon Kyobu Geka Gakkai Zasshi* 1995; 43: 26-31.
- Vega VL, Mardones L, Maldonado M et al. Xanthine oxidase released from reperfused hind limbs mediate Kupffer cell activation, neutrophil sequestration, and hepatic oxidative stress in rats subjected to tourniquet shock. *Shock* 2000; 14: 565-571.