

İSKEMİK PRECONDITIONING YÖNTEMİNİN AORTİK KROS KLEMP SONRASI ORTAYA ÇIKAN ORGAN HASARLARINI ÖNLEMEDEKİ ROLÜ

THE ROLE OF ISCHEMIC PRECONDITIONING ON REDUCING ORGAN INJURY DUE TO TRANSIENT ABDOMINAL AORTIC OCCLUSION

Öcal BERKAN*, Esin YILDIZ**, Gökhan GÖKÇE***, Ayhan KOYUNCU****, Semih AYAN**,
Gökhan KÖYLÜO/ LU****, İhan GÜNAY*, Kasım DO/ AN*

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kalp Damar Cerrahisi *, Patoloji **, Üroloji ***, Genel cerrahi **** ve Çocuk Cerrahisi
Klinikleri****, Sivas

Özet

Amaç: Bu çalışmada, iskemi reperfüzyon'a (İ/R) bağlı akciğer, karaciğer ve böbreklerde ortaya çıkan hasara karşı iskemik preconditioning (PC) yönteminin etkisi değerlendirildi.

Yöntem: Çalışmaya alınan 17 adet rat, kontrol grubu (Grup 1), iskemi reperfüzyon grubu (Grup 2), ve PC yöntemi uygulanan grup (Grup 3), olmak üzere üç gruba ayrıldılar. Kontrol gruptaki ratlarda, batın açıldı ve abdominal aorta eksplere edildikten sonra hiçbir girişim yapılmadan 4 saat sonra kapatıldı. İkinci grupta infrarenal aortaya 3 saat süre ile oklüzyon uygulandı, kros klempt alındıktan sonra 1 saat reperfüzyon için beklendi. PC grubunda 3 defa tekrarlanan 5'er dakikalık iskemi/reperfüzyon periyodunun sonrasında 2 saat 45 dakika iskemi, 1 saat reperfüzyon süresi uygulandı. İlem tamamlandıktan sonra ratların akciğerleri, karaciğerleri, ve böbrekleri çıkartıldı. Histolojik inceleme sonrasında hasar skor puanları hesaplandı.

Bulgular: Akciğerlerde, PC grubunun hasar performans skoru İ/R grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.05$). Karaciğer dokularında da PC grubunda performans skoru daha yüksek bulundu, fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Böbrek dokusunda ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da performans skoru PC grubunda daha düşük bulundu ($p>0.05$).

Sonuç: PC yöntemi iskemi reperfüzyon sonucu ortaya çıkan karaciğer hasarını ve belirgin flekilde de akciğer hasarını artırmaktadır. Böbrekler üzerinde ise PC'in istatistiksel anlam taşımayan İ/R hasarını azaltıcı bir etkisi vardır. (Damar Cer Der 2005;14(3):15-20).

Anahtar Kelimeler: İskemik ön şartlama, iskemi/reperfüzyon, akciğer, karaciğer, böbrek.

Abstract

Purpose: In this study, injury in the lungs, liver and kidneys due to ischemia/reperfusion (I/R) and preventive effect of ischemic preconditioning (IPC) were investigated.

Materials and method: Seventeen rats were divided into 3 groups as control (Group 1), I/R group (Group 2) and ischemic preconditioning. Rats in the group 1 were undertaken laparotomy and exploration of abdominal aorta and closed after 4 hours. In the second group, the infrarenal aorta of the rats were clamped a period of 3 hours. After ischemic period, aortic clamping was removed and waited for 1 hour of reperfusion period. In IPC group, after ischemia/reperfusion periods of 5 minutes which were repeated 3 times, an ischemia period for 2 hour and 45 minutes and a subsequent reperfusion for 1 hour were maintained. The animals were sacrificed and the histological specimens of the lungs, liver and kidneys were examined at the end of procedure.

Results: The injury performance score was found to be significantly higher in the lungs of IPC group than those I/R group ($p<0.05$). That was also accurate for the liver, but it was statistically insignificant ($p>0.05$). In renal tissue, performance score was lower in the IPC group, but it was not significant as compared to I/R group ($p>0.05$).

Conclusion: The results of this study suggested that IPC contributed the increase of injury after ischemia/reperfusion in the liver and especially in the lungs. Contrary to these, it was found to be slightly beneficial in the kidney after I/R. (Turkish J Vasc Surg 2005;14(3):15-20).

Keywords: Ischemic preconditioning, ischemia/reperfusion, lung, liver, and kidney.

Yrd. Doç. Dr. Öcal BERKAN

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi,

Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği,

58140 Sivas.

Tel: 0346 2191602

GSM: 0532 7869021

Fax: 0346 2191284

e-mail: oberkan@cumhuriyet.edu.tr.

GİRİŞ

Aortanın klemplenmesi ile oluşan geçici iskemi reperfüzyon (R), iskekiye maruz kalan bölge dındaki uzak doku ve organlarda da hasara yol açmaktadır^(1,2). Bu hedef organlar arasında akciğer, karaciğer ve böbrekler gibi hayati önem taşıyan organlarda yer almaktadır. «skemik preconditioning (PC) yönteminin iskemi reperfüzyon sonrası ortaya çıkan organ hasarlarını önlemede önemli rolü olduğu ileri sürülmüştür⁽³⁻⁵⁾. Bu çalışmada, infrarenal aort oklüzyonu sonrasında oluşan R'a baı akciğer, karaciğer ve böbreklerde ortaya çıkan deifliklikler histopatolojik olarak incelendi ve PC yönteminin bu deifliklikler üzerindeki etkisi değerlendirildi.

MATERYAL ve YÖNTEM

Aynı ortamda yaşamı ve aynı şekilde beslenmiş, ağırlıkları 230 - 280 gr arasında olan 17 adet Wistar albino cinsi beyaz rat çalışmaya alındı. Ratlar kontrol grubu (Grup 1), iskemi reperfüzyon grubu (Grup 2) ve PC uygulanan grup (Grup 3) olmak üzere üç gruba ayrıldı. Oda havasında, 20 C 0 de, Ketamine HCl (Ketalar-Eczacıbaşı) 40 mg /kg + xylazine (Rompun-Bayer) 5 mg/kg sol ön ayak adalesine intramusküler yolla uygulanarak anestezi sağlandı. İflemler boyunca ratlar solunumları spontan olarak devam edecek şekilde uyutuldu. Anestezi sonrasında batın yaklaşık 4 cm'lik orta hat insizyonla ksifoidin hemen altından pubisin 0.5 cm üzerine kadar açıldı. Kontrol gruptaki ratlarda, batın açıldı ve abdominal aorta eksplore edildikten sonra hiçbir girişim yapılmadan 4 saat sonra kapatıldı (n=5). R grubunda infrarenal aortaya 3 saat süre ile oklüzyon uygulandı, kros klemp alındıktan sonra 1 saat reperfüzyon için beklendi (n=6). PC grubunda 3 defa tekrarlanan 5'er dakikalık iskemi/ reperfüzyon periyodunun sonrasında 2 saat 45 dakika iskemi, 1 saat reperfüzyon süresi uygulandı (n=6). Yapılan iflemler tamamlandıktan sonra ratlara yüksek doz anestezi verilerek akciğerleri, karaciğerleri, böbrekleri çıkartıldı ve formalinde fikse edildi. Her üç grupta bulunan

ratlardan alınan doku örnekleri ile parafin bloklar hazırlandı. Bu parafin bloklardan seri kesitler yapıldı ve hemotoksilen eosin boyası ile boyandı. Gözlemler, deneyin ve alınan örneklerin ayrıntılarını bilmeyen tarafsız bir patolog tarafından yapıldı.

Hasar skoru tespit edilirken, büyütme alanı içerisinde bulunan akciğerler için ödem, hiperemi ve polimorf nüveli lökositlerin olması, böbrekler için distal ve proksimal tubulus epitelinde bulanık fişme, nekroz ile infiltrasyon ve konjesyon olması, karaciğer için ise hiperemi, bulanık fişme, fokal nekroz, kupfer hücre hiperplazisi baz alındı ve hasar miktarı tespit edildi. Daha önce Tassiopoulos ve arkadaşları'nın kullandıkları skorlama sistemi ile Klausner ve arkadaşları'nın modifiye skorlama sistemi hasar miktarının tespit edilmesinde kullanıldı^(1,6). Buna göre; 0, deifliklik yok; 1+, fokal, göze çarpmayan hafif derecede deifliklikler; 2+, multifokal orta derecedeki deifliklikler; 3+, multifokal ileri derecede ve yoğun deifliklikler olarak puanlama yapıldı.

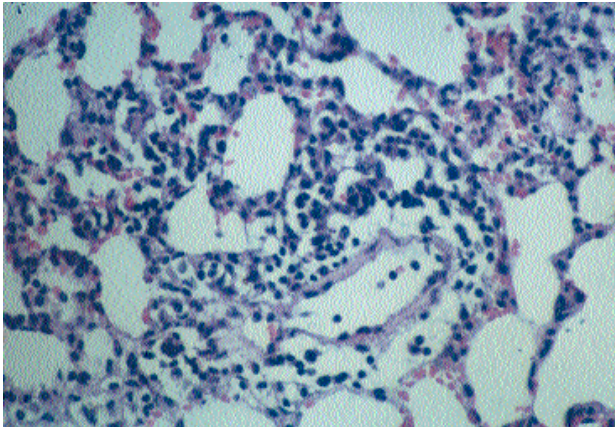
«statistiksel değerlendirmede her bir doku için ayrı ayrı olmak üzere; kontrol grubu (Grup 1), R grubu (Grup 2) ve PC uygulanan grup (Grup 3) ikiferli olarak kendi aralarında Mann Whitney testi ile karşılaştırıldı. P değerinin 0.05'in altında olması (p<0.05) anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Akciğer, karaciğer ve böbrek dokuları histolojik olarak değerlendirildiğinde, kontrol grubunda normale yakın bulgular görüldü.

Akciğer dokusunda ikinci ve üçüncü grupta, kontrol grubuna göre daha fazla PMNL birikimi, ödem ve konjesyon saptandı (Resim 1). Üçüncü grup, ikinci grup ile kıyaslandığında, 3.grupta PMNL sayısı'nın daha fazla olduğu görüldü. Ayrıca, interstisiyel ödem ve konjesyonda daha fazlaydı.

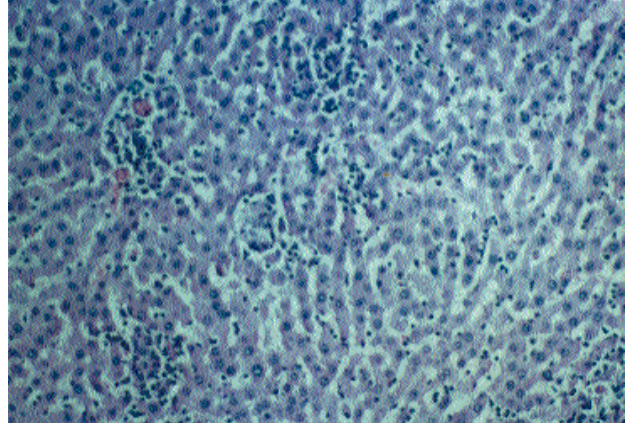
Akciğerlerdeki patolojik deiflikliklerin derecesini ifade edebilmek için kullanılan semikantitatif değerlendirmede, kontrol grubunun hasar skor puanı 0.8 olarak bulundu. Kontrol grubunun hasar skor puanı hesaplanırken, ortalaması alınan puan değerleri 0 ile +1



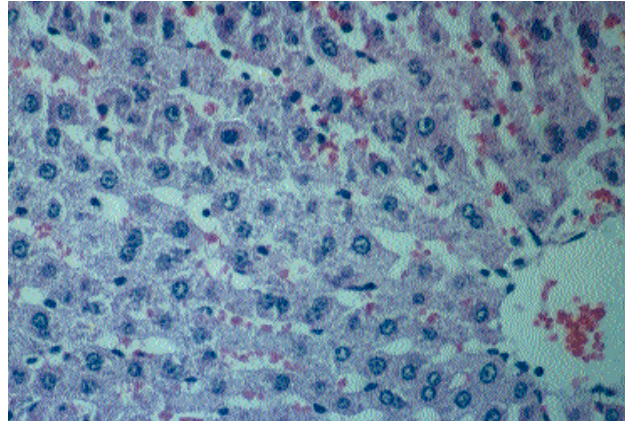
Resim 1: Akciğerlerde lenfosit ve PMNL yoğunluğu olan interstisyel iltihabi hücre infiltrasyonu (HE,x 300).

arasında değifmekteydi. İkinci ve üçüncü grubun hasar skor puanı hesaplanırken ise ortalaması alınan puan değerleri + 1 ile + 3 arasında değifmekteydi. Bu değerlere göre hesaplanan 2. grubun hasar skor puanı 2.16 olarak bulundu. Kontrol grubu ile 2. grup karşılaştırıldıklarında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p<0.05$). Üçüncü grubun hasar skor puanı 2.66 olarak hesaplandı. Kontrol grubu ile 3. grup, hasar skor puanları yönünden karşılaştırıldıklarında zaman aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0.05$). Alt ekstremitelerde oluşan 4/R sonucunda akciğerlerinde hasar olduğu gözlemlenen ikinci ve üçüncü gruptaki ratlar kendi aralarında karşılaştırıldıklarında, PC uygulanan 3. grubun hasar skoru puanı 2. gruba göre yüksek bulundu. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0.05$). Karaciğer dokusunda oluşan hepatositlerdeki bulanık fiğme, fokal hücre nekrozu, kupffer hücre hiperplazisi gibi değiflikliklerin 2. ve 3. gruplarda kontrol grubuna göre daha belirgin olduğu görüldü (Resim 2). Bu değifliklikler 3. grupta 2. gruba göre daha yoğundu. Karaciğerdeki patolojik değiflikliklerin derecesini ifade edebilmek için kullanılan semikantitatif değerlendirmede, kontrol grubunun hasar skor puanı 0.6 olarak bulundu. Kontrol grubunun hasar skor puanı hesaplanırken, ortalaması alınan puan değerleri 0 ile +1 arasında değifmekteydi. İkinci ve üçüncü grubun hasar skor puanı hesaplanırken ise ortalaması alınan puan değerleri + 0 ile + 3 arasında değifmekteydi. Bu değerlere göre hesaplanan 2. grubun hasar skor puanı

a)

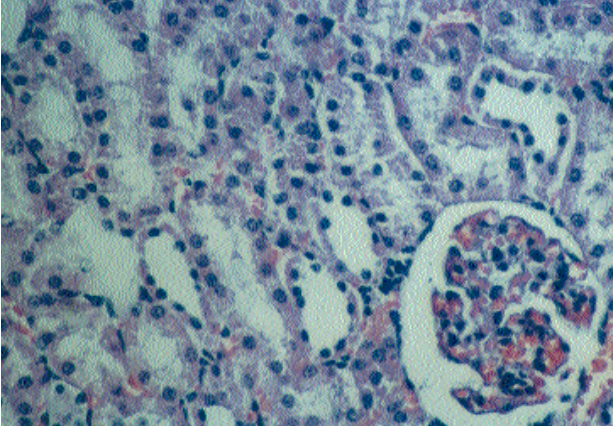


b)



Resim 2: a) Karaciğerde fokal hücre nekrozları ve Kupffer hücre hiperplazisi(HE,x 75),
b) Karaciğerde portal alan çevresinde hepatositlerde bulanık fiğme (HE,x 300).

1.66 olarak bulundu. Kontrol grubu ile 2. grup karşılaştırıldıklarında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p<0.05$). Üçüncü grubun hasar skor puanı 1.83 olarak hesaplandı. İkinci ve üçüncü gruptaki ratlar kendi aralarında karşılaştırıldıklarında, PC uygulanan 3. grubun hasar skoru puanı 2. gruba göre yüksek bulundu, ancak bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Kontrol grubundaki böbrek dokularının histolojik değerlendirmesinde normale yakın bir doku görüntüsü vardı. Tübüler nekroz hiçbir grupta görülmeydi. İkinci ve üçüncü grupta, kontrol grubuna göre bulanık fiğme, ödem ve konjesyon daha belirgindi (Resim 3). Üçüncü grup, ikinci grup ile kıyaslandığında, üçüncü grupta bu bulguların daha hafif olduğu görüldü. Böbreklerdeki patolojik değiflikliklerin derecesini ifade edebilmek için



Resim 3: Böbrekte proksimal tubul epitel hücrelerinde bulunan fiftme (HE, x 300).

kullanılan semikantitatif değerlendirilmede, kontrol grubunun hasar skor puanı 0.6 olarak bulundu. Kontrol grubunun hasar skor puanı hesaplanırken, ortalaması alınan puan değerleri 0 ile +1 arasında değişmekteydi. İkinci ve üçüncü grubun hasar skor puanı hesaplanırken ise ortalaması alınan puan değerleri +1 ile +3 arasında değişmekteydi. Bu değerlere göre hesaplanan 2. grubun hasar skor puanı 1.5 olarak bulundu. Kontrol grubu ile 2. grup karşılaştırıldıklarında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p < 0.05$). Üçüncü grubun hasar skor puanı 1.33 olarak hesaplandı. İkinci ve üçüncü gruptaki ratlar kendi aralarında karşılaştırıldıklarında, PC uygulanan 3. grubun hasar skoru puanı 2. gruba göre düşük bulundu. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$).

Histopatolojik olarak genel bir değerlendirme yapıldığında ise akciğerlerde, PC grubunu hasar performans skorunu R grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$). Karaciğer dokularında da PC grubunda performans skoru daha yüksek bulundu, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$). Böbrek dokusunda ise, istatistiksel anlam taşımada performans skoru PC grubunda daha düşük bulundu ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

PC yöntemi, ilk defa Murry ve arkadaşları tarafından köpek kalbi üzerinde yapılan bir çalışma ile 1986 yılında tanımlanmıştır⁽⁷⁾. Daha sonra yapılan çalışmalarda PC yönteminin kalp, karaciğer, akciğer, böbrek, kemik ve diğer organlarda iskemik reperfüzyona bağlı ortaya çıkan

hasar azaltıcı etkisi olduğu ortaya konulmuştur^(3,4,5,8). Bu çalışmada, infrarenal aortada oluşan R'a bağlı olarak akciğer, karaciğer ve böbreklerde ortaya çıkan değişiklikler ve PC yönteminin bu değişiklikler üzerine olan etkisi değerlendirildi.

PC yönteminin amaç kısa süreli iskemik periyodlar yaratarak, ardından oluşacak uzun süreli iskemik periyoduna karşı dokunun direncinin artmasını sağlamak ve iskemik reperfüzyon hasarını azaltmaktır. Bu koruyucu etkinin K adenosin trifosfat (KATP) sensitif kanalların açılması ile olduğu düşünülmektedir^(8,9). PC'nin etkisinin oluşmasına esas olarak sarkolemmal G proteinine bağlı reseptörler aracılık etmektedirler^(8,10). Bu reseptörler protein kinaz C bağlayabilen Adenosin trifosfat (A1, A3), Bradikinin (BK2), ve opioid (Delta1) reseptörleridir⁽¹⁰⁻¹³⁾. PC'nin etkisiyle oluşan protein kinaz C aktivasyonu tirozin kinaz aktivasyonunu sağlar bu da diğer kinazların aktivasyonuna ve sırasıyla sarkolemmal fosforilasyona ve mitokondrial KATP kanallarının aktivasyonuna yol açar^(14,15,16).

PC'nin uzun süreli iskemik periyodların sonrasında adenosin trifosfatların korunmasına katkıda bulunduğu biyokimyasal analizler de göstermiştir. Myofibril adenosin trifosfat seviyeleri iskemik sırasında düştüğü zaman, KATP kanalları açılır ve K'un dışı akışı sağlanır, bütün bunlar K'un denge içindeki potansiyelinin ötesinde depolarize voltajlardır^(8,9,14). K kanallarının açılması erken repolarizasyonu sağlar ve Ca akışını inaktive eder ve böylece olumsuz bir negatif inotropik etki oluşur^(14,15). K kanal agonistleri invivo kofullarda iskemik sonrasında reperfüze olan dokulardaki fonksiyonel toparlanmayı artırır, ve bu etki K kanal antagonistleri tarafından bloke edilebilir^(14,17).

PC ve iskemik reperfüzyon injürisi ile ilgili serbest radikallerin rolü tam olarak anlaşılamamıştır^(18,19). İskemik reperfüzyon ve PC'deki nitrik oksit'in (NO) rolü ile ilgili olarak birçok farklı görüşleri sürülmektedir^(20,21). Kısa süreli iskemik sırasında NO salınımının PC'nin tetiklediği gösterilmiştir, endotelial NO sentetaz inhibisyonu ile bu koruyucu etkinin bloke olduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir. Buna karşın bazı araştırmacılar NO'nin kendiliğinden PC'na iştirak etmeyeceğini ileri sürdüler.

Akciğerler üzerinde <PC'n>n nasıl etki ettiği ile ilgili çalışmaların sonuçları incelendiğinde, <PC'in akciğerleri iskemik hasara karşı koruduğu ve akciğer fonksiyonlarında hızlı düzelme sağladığı görülmüştür^(5,22). NO gibi süperoksit radikallerinin özel bir protein kinaz C'yi aktive ettikleri bilinmektedir, böylece serbestleşen bu radikaller kısa bir <PC periyodu esnasında korunmaya katkıda bulunabilir^(13,16,21). Yapılan çalışmalarda <PC uygulanması'nın akciğerler üzerinde koruyucu etki yaptığı gösterilmiştir. Bu etkinin nedeni de <PC'n>n akciğer dokusunda PMN aktivasyonunu ve akümülyasyonunu inhibe ettiği ve serbest oksijen radikallerinin üretimini azalttığı şeklinde açıklanmıştır^(22,23). Bizim yaptığımız çalışmada, <PC uygulanan grupta <R grubuna göre PMNL sayısı'nın, interstisiyel ödem ve konjesyonun daha fazla olduğu görüldü. Ayrıca hasar skoru puanı da 2. gruba göre yüksek bulundu ($p<0.05$). Çalışmamızdaki sonuçlar literatürdeki sonuçlarla farklılık göstermektedir. Bunun nedeninin ise kullanılan metod farklılığından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Literatürde yapılan <PC modelleri direkt iskemi reperfüzyona maruz kalan organa uygulanmıştır. <PC'n>n akciğerler üzerindeki dolaylı etkisi Baltalarlı ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ortaya konulmuş ve akciğerlerde ödem ve lökosit infiltrasyonuna yol açtığı görülmüştür⁽²⁴⁾. Bizim bulgularımızda da bu bulgularla paralellik gösterdiği dikkate alınrsa, <PC'in akciğerler üzerindeki direkt ve dolaylı etkisi arasında farklılık olduğu sonucuna varılmaktadır. <PC'in yöntemi direkt uygulandığı zaman <R' karşı akciğer hasarı'nı azaltıcı etkisi, buna karşın dolaylı uygulandığı zaman akciğer hasarı'nı daha da artıran etkisi olduğu görüldü.

Nilsson ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, ratlarda hepatik artere konulan klemple oluşturulan iskemi reperfüzyon hasarına karşı <PC'in koruyucu etkisi olduğunu ortaya koymuşlardır⁽⁴⁾. Buna benzer birçok çalışmada da <PC uygulaması'nın yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir^(25,26). Yaptığımız çalışmada, <PC uygulanan grupta hepatositlerdeki bulanık fişme, fokal hücre nekrozu, kupffer hücre hiperplazisi gibi değişikliklerin daha belirgin olduğu görüldü. Ayrıca, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da <PC uygulanan 3. grubun hasar

skoru puanı 2. gruba göre daha yüksek bulundu ($p>0.05$). Bizim bulgularımızda literatürdeki verilerle farklı olmasının nedeni, <PC uygulaması'nı direkt hepatik arter yerine infrarenal aortaya uygulamış olmamızdan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Yapılan birçok çalışmada, renal artere uygulanan <PC'in iskemi reperfüzyona karşı böbrekler üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur^(3,27,28). Çalışmamızda, 3. gruptaki bulanık fişme, ödem ve konjesyon 2. gruba göre daha az olduğu görüldü. 3. grubun hasar skoru puanı da 2. gruba göre daha düşük bulundu, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). <iskemi reperfüzyona bağlı renal hasar direkt uygulanan <PC yönteminin azalttığı bilgisine ilave olarak, bu çalışmada dolaylı uygulanan <PC yönteminin de istatistiksel olarak anlamlı olmasa da renal hasar azalttığı sonucu ortaya çıktı. Bu sonuç, akciğer ve karaciğerlerde elde ettiğimiz sonuçlardan farklılık göstermektedir. <PC'in dolaylı etkisi sonucunda akciğer ve karaciğerde hasar artarken, böbreklerde azalmaktadır. <PC yönteminin uygulanmasında süre ve uygulama şeklinin farklı sonuçlar doğurduğu bilinmektedir. <PC'in direkt etkisinin şimdiye kadar yapılan çalışmalarda tüm organlar üzerinde olumlu etki yaptığı görüldü. Ancak bizim sonuçlarımızda göre <PC'in dolaylı etkisi organlara göre farklılıklar göstermektedir. Yapılan invivo çalışmalarda <PC'in böbrekler üzerindeki koruyucu etkisine yalnızca protein G ve protein Kinaz C'nin aracılık ettiği, K⁺ ATP kanallarının, bradikinin, metakolin, ve opioid gibi reseptörlerin etkisiz oldukları görülmüştür⁽²⁸⁾. Adenozin reseptörleri ile ilgili ise farklı görüşler ileri sürülmektedir⁽²⁷⁾. Böbreklerde diğer organlara göre farklı reseptörlerin de aracılık etmeleri organlar arasında farklı bulgular elde edilmesine neden olabilir. Ancak bütün bunlar ileri çalışmalarla ortaya konulabilecek ve <PC'nin böbrekler üzerinde ne ölçüde yarar sağladığı ve mekanizması'nın nasıl olduğu konusunda kesin bir yargıya varılacaktır.

Sonuç olarak, <PC yöntemi iskemi reperfüzyon sonucu ortaya çıkan karaciğer hasarını ve belirgin şekilde de akciğer hasarını artırmaktadır. Böbrekler üzerinde ise istatistiksel olarak anlamlı olmayan, <R hasar azaltıcı bir etkisi vardır.

KAYNAKLAR

1. Tassiopoulos AK Hakim TS; Finck CM et al. Neutrophil sequestration in the lung following acute aortic occlusion starts during ischaemia and can be attenuated by tumour necrosis factor and nitric oxide blockade. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1998 ; 16: 36-42.
2. Anner H, Kaufman RP, Kobzik L, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pulmonary leukosequestration induced by hind limb ischemia. *Ann Surg* 1987; 206: 162-7.
3. Toosy N, McMorris EL, Grace PA, Mathie RT. Ischaemic preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury. *BJU Int* 1999; 84: 489-94.
4. Nilsson B, Friman S, Gustafsson BI, Delbro DS. Preconditioning protects against ischemia/reperfusion injury of the liver. *J Gastrointest Surg* 2000; 4: 44-9.
5. Soncul H, Oz E, Kalaycioglu S. Role of Ischemic Preconditioning on Ischemia-Reperfusion Injury of the Lung .*Chest* 1999; 115: 1672-77.
6. Klausner JM, Paterson IS, Kobzik L, Rodzen C, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Vasodilating prostaglandins attenuate ischemic renal injury only if thromboxane is inhibited. *Ann Surg* 1989; 209: 219-224.
7. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: A delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-36.
8. Gross GJ, Fryer RM. Sarcolemmal versus mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels and myocardial preconditioning. *Circ Res* 1999; 84: 973-9.
9. Shinbo A, Iijima T. Potentiation by nitric oxide of the ATP-sensitive K⁺ current induced by K⁺ channel openers in guinea-pig ventricular cells. *British Journal of Pharmacology* 1997; 120: 1568-74.
10. Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AWH, Olsson RA, Downey JM. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation* 1991; 84: 350-6.
11. Goto M, Liu Y, Yang XM, Ardell JL, Cohen MV, Downey JM. Role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbit hearts. *Circ Res* 1995; 77: 611-21.
12. Auchampach JA, Gross GJ. Adenosine A1 receptors, KATP channels, and ischemic preconditioning in dogs. *Am J Physiol* 1993; 264: H1327-36.
13. Speechly ME, Mocanu MM, Yellon DM. Protein kinase C Its role in ischemic preconditioning in the rat. *Circ Res* 1994; 75: 586-90.
14. Speechly DE, Grover GJ, Yellon DM. Does ischemic preconditioning in the human involve protein kinase C and the ATP-dependent K⁺ channel? Studies of contractile function after simulated ischemia in an atrial in vitro model. *Circ Res* 1995; 77: 030-5.
15. Weinbrenner C, Liu GS, Cohen MV, Downey JM. Phosphorylation of tyrosine 182 of p38 mitogen-activated protein kinase correlates with the protection of preconditioning in the rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 2383-91.
16. Baines CP, Wang L, Cohen MV, Downey JM. Protein tyrosine kinase is downstream of protein kinase C for ischemic preconditioning's anti-infarct effect in the rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30: 383-92.
17. Ko SH, Lee SK, Han YJ, et al. Blockade of myocardial ATP-sensitive potassium channels by ketamine. *Anesthesiology* 1997; 87: 68-74.
18. Baines CP, Goto M, Downey JM. Oxygen radicals released during ischemic preconditioning contribute to cardioprotection in the rabbit myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 207-16.
19. Bolli R. The early and late phases of preconditioning against myocardial stunning and the essential role of oxyradicals in the late phase An overview. *Basic Res Cardiol* 1996; 91: 57-63.
20. Beckman JS, Wink DA, Crow JP: Nitric oxide and peroxynitrate, *Methods in Nitric Oxide Research*. Feelisch M, Stamler JS. New York, John Wiley & Sons, 1996, 61-70.
21. Bolli R, Manchikalapudi S, Tang X-L, et al. The protective effect of late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits is mediated by nitric oxide synthase. *Circ Res* 1997; 81: 1094-107.
22. Du ZY, Hicks M, Winlaw D, et al. Ischemic preconditioning enhances donor lung preservation in the rat. *J Heart Lung Transplant* 1996; 15: 1258-1267.
23. Friedrich I, Spillner J, Lu EX, Bartling B et al. Ischemic preconditioning of 5 minutes but not of 10 minutes improves lung function after warm ischemia in a canine model. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20: 985-95.
24. Baltacıoğlu A, Çolakoğlu N, Önem G et al. «skemik preconditioning, sığanlarda bilateral alt ekstremite iskemi/reperfüzyonuna bağlı gelişen akciğer hasarını artırır.TGKDCD 2000; 8:1,537-9.
25. Yadav SS, Sindram D, Perry DK, Clavien PA. Ischemic preconditioning protects the liver by inhibition of apoptosis through a caspase dependent pathway. *Hepatology* 1999; 30: 1223-31.
26. Clavien P, Yadav S, Sindram D, Bentley R C. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Annals of Surgery* 2000; 232: 155-62.
27. Sugino H, Shimada H, Tsuchimoto K. Role of adenosine in renal protection induced by a brief episode of ischemic preconditioning in rats. *Jpn Pharmacol* 2001; 87:134-42.
28. Lee HT, Emala CW. Protein Kinase C and Gi/o Proteins Are Involved in Adenosine and Ischemic Preconditioning-Mediated Renal Protection. *Journal of the American Society of Nephrology* 2001; 12: 233-40.