

Papaverin ve Askorbik Asidin Reperfüzyona Bağlı Böbrek Hasarında Etkileri: Deneysel İskemi ve Reperfüzyon Modeli

Effects of Papaverine and Ascorbic Acid on Reperfusion Induced Renal Injury: An Experimental Ischemia and Reperfusion Model

Kadir ARSLAN,^a
Serhat HÜSEYİN,^a
Volkan YÜKSEL,^a
Tülin Deniz YALTA,^b
Fatma Nesrin TURAN,^c
Suat CANBAZ,^a
Turan EGE,^a
Hasan SUNAR^a

^aKalp ve Damar Cerrahisi AD,

^bTıbbi Patoloji AD,

^cBiyostatistik AD,

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Edirne

Geliş Tarihi/Received: 25.12.2013

Kabul Tarihi/Accepted: 25.02.2014

Yazışma Adresi/Correspondence:

Volkan YÜKSEL

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Kalp ve Damar Cerrahisi AD, Edirne,
TÜRKİYE/TURKEY
drvuyksel@yahoo.com

ÖZET Amaç: Akut ekstremite iskemisi tedavisi sonrası gelişen reperfüzyon hasarı ciddi mortalite ve morbiditeye yol açabilen klinik bir durumdur. Ekstremitenin reperfüzyonu tam olarak sağlansa bile ekstremitenin kaybına, akut böbrek ve solunum yetmezliğine yol açabilir. Bu çalışmada, sıçan infrarenal abdominal aortunda oklüzyon-reperfüzyon sonrası böbreklerde oluşan iskemi/reperfüzyon hasarı üzerine C vitamini ve papaverinin etkisi araştırıldı. **Gereç ve Yöntemler:** Otuz iki adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan randomize olarak, eşit sayıda (n=8) dört gruba ayrıldı. Tüm sıçanlara aynı cerrahi prosedür uygulandı. İnfrarenal aortaya mikrovasküler klemp konularak 60 dakika iskemi oluşturuldu, ardından klemp kaldırılarak 120 dakika reperfüzyon uygulandı. Kontrol grubu ve iskemi reperfüzyon grubuna ek bir ilaç verilmezken, diğer iki gruba C vitamini ve papaverin HCL verildi. Alınan böbrek dokuları formaldehit ile fiks edildi ve kesitler alınarak Hematoksilin-Eozin ile boyandı. Preparatlar ışık mikroskopunda değerlendirildi. **Bulgular:** Histopatolojik incelemede kontrol grubu ile iskemi/reperfüzyon grubu arasında anlamlı patolojik değişiklik tespit edildi. C vitamini grubunda Bowman kapsül dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübül dilatasyonu, damar konjesyonu istatistiksel olarak anlamlı iken, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon anlamsızdı. Papaverin grubunda Bowman kapsül dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübül dilatasyonu istatistiksel olarak anlamlı iken, damar konjesyonu, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon anlamsızdı. **Sonuç:** C vitamininin serbest radikal temizleyici etkisi ve papaverinin vazodilatör etkisi ile mikrosirkülasyonu koruyarak akut alt ekstremite iskemilerinde reperfüzyon sonrası böbrekte gelişecek hasarı azaltabileceğini gözlemledik.

Anahtar Kelimeler: İskemi; reperfüzyon; akut böbrek hasarı; papaverin; askorbik asit

ABSTRACT Objective: The reperfusion injury that occurs after the treatment of acute extremity ischemia, is a clinical manifestation causes serious morbidity and mortality. Even if extremity reperfusion is totally provided, it may cause extremity loss, acute renal and respiratory failure. In this experimental study, the effect of vitamin C and papaverine on ischemia-reperfusion injury in kidneys occurring after occlusion-reperfusion of rat infrarenal abdominal aorta was investigated. **Material and Methods:** 32 Sprague-Dawley female rats were randomly divided into four equal groups (n=8). The same surgical procedure was applied to all rats. The microvascular clamp was put on infrarenal aorta and 60 minutes of ischemia was applied, then the clamp was removed and 120 minutes of reperfusion was supplied. The control and the ischemia-reperfusion groups were not given any drug and the other two groups were given vitamin C and papaverine. The incised renal tissues were fixed with formaldehyde then the samples were stained with Hematoxylin-Eosin. The samples were examined by light microscopy. **Results:** Meaningful pathological alterations were found out between ischemia and reperfusion group and control group. In vitamin C group, while dilatation of Bowman's capsule, tubular epithelial degeneration, tubular dilatation, and vascular congestion were statistically significant, interstitial inflammatory infiltration was meaningless. In papaverine group, dilatation of Bowman's capsule, degeneration of tubular epithelium, and tubular dilatation were statistically significant, vascular congestion and interstitial inflammatory infiltration were meaningless. **Conclusion:** We observed that the radical scavenging effect of vitamin C and vasodilatory effect of papaverine may reduce the renal injury after the reperfusion in the acute lower extremity ischemias by preserving the microcirculation.

Key Words: Ischemia; reperfusion; acute kidney injury; papaverine; ascorbic acid

İskemi, bir dokuya ya da organa gelen kan akımının azalması veya durması ile oluşan atık ürünlerin dolaşım tarafından uzaklaştırılmaması; reperfüzyon ise, enerji ihtiyacının karşılanması ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması için dokuya ya da organa tekrar kan akımının sağlanmasıdır. İskemiye uğrayan hücre ve dokular anaerobik metabolizma yoluyla gerekli enerjiyi sağlamaya çalışırlar. Oluşan metabolitler doku perfüzyonu olmadığından dokuda birikir ve reperfüzyonla buradaki metabolitlerin oksidasyonu sonucu oluşan maddeler dolaşıma karışır ve kan ile tüm vücuda yayılırlar.^{1,2}

Alt ekstremitelerde iske mi reperfüzyon hasarı, özellikle aort cerrahisinde abdominal aortaya geçici süre kros-klemp uygulamalarında, akut femoral arter tıkanıklıklarında, travmatik veya iyatrojenik arteriyel yaralanmalarda ortaya çıkmaktadır. Ayrıca serebrovasküler olaylar, miyokard infarktüsü, mezenter ve periferik arter embolilerinde uygulanan trombolitik tedaviler, organ transplantasyonu, sepsis, şok, yanık, pankreatit gibi, cerrahi ve travmatik durumlarda ortaya çıkan iske mi ve hipovoleminin düzeltilmesi diğer reperfüzyon hasarı sebepleridir.³ Reperfüzyon sırasında, 'washout' yani yıkanma etkisiyle sistemik dolaşıma birçok kimyasal mediyatör dağılır ve olası mikroembolilerle diğer organ kapillerleri tıkanarak uzak organlarda hasara katkıda bulunur.⁴

Kardiyovasküler cerrahi teknik ve erken postoperatif dönem takip uygulamalarındaki gelişmelere rağmen aortik girişimler sonrasında gelişen iske mi reperfüzyon hasarı, postoperatif morbidite ve mortaliteyi etkileyen ciddi bir problemdir. En uygun stratejinin ne olduğu hâlen tartışma konusudur. Özellikle alt ekstremitelerde iske mi reperfüzyon dönemi sonrasında oluşan uzak organ hasarında böbrekler hedef organ konumundadır ve bu durum klinik olarak önem taşımaktadır.

Bu çalışmada; antioksidan etkisi çok eskiden beri bilinmekte olan C vitamini (askorbik asit) ile anjiyotensin, katekolaminler ve endotelin gibi mediyatörlerin vazokonstriktif etkilerini geri dönmeye katkıda bulunan vazodilatatör etkili papave-

rinin, alt ekstremitelerde iske mi reperfüzyon hasarı sonrası böbrek dokusuna olan etkilerini histopatolojik olarak incelemeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma Yerel Etik Kurulu kararı onayı alındıktan sonra Deney Hayvanları Birimi Laboratuvarında yapıldı. Çalışmada yaklaşık 3,5-4 aylık, dişi, 190-250 g ağırlığında, 32 adet Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Sıçanlar randomize olarak eşit sayıda (n=8) dört gruba ayrıldı. Sıçanlar deney süresince 12'şer saatlik aydınlık-karanlık ışıklandırması olan, ısısı 20-22 °C ve nem oranı %45-50 olan, otomatik olarak ayarlanan şeffaf kafeslerde tutuldu. Sıçanların beslenmesinde standart ticari pellet yemi ve çeşme suyu kullanıldı. Deneye başlamadan önce hayvanların bir hafta ortam koşullarına adaptasyonları sağlandı. Tüm sıçanların bakımı, Laboratuvar Hayvanlarının Bakım ve Kullanımı Kılavuzu (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals)'na göre uygun olarak yapıldı.

DENEKLERİN HAZIRLANMASI VE CERRAHİ TEKNİK

Tüm sıçanlara sekiz saatlik açlık sonrasında ketamine HCl 40 mg/kg (Ketalar® 50 mg/mL flakon, Pfizer İlaçları Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye)+ksilazin hidroklorür 5 mg/kg (Rompun® 23,32 mg/mL, 50 mL flakon, Bayer Türk Kimya San. Tic. Ltd. Şti, İstanbul, Türkiye) ile sol ön ayak adalesine intramusküler yolla anestezi, işlem boyunca sıçanların solunumları spontan olarak devam edecek şekilde uygulandı. Sıçanlar ısıtıcı lamba altında supin pozisyonda masaya yatırıldı. Tüm sıçanların ciltleri aseptik olarak hazırlandıktan sonra ksifoidin hemen altından pubisin 0,5 cm üstüne kadar orta hat median laparotomi yapıldı, barsaklar nemli bez yardımı ile sağa deviyeye edilerek infrarenal abdominal aorta ve sol böbrek künt diseksiyonla eksplore edildi. Tüm sıçanlara düşük doz (100 ü/kg) heparin (Nevparin® 25 000 IU 5 mL flakon, Mustafa Nevzat İlaç Sanayi A.Ş., Türkiye) yapıldı. Sıvı resüsitasyonu 10 mL/kg %0,9'luk NaCl ile kuyruk veninden verilerek sağlandı. İnfrarenal abdominal aortaya atravmatik mikrovasküler klemp (Novac-lip® 12 mm Angle, Plymouth, ABD) kondu. Klemp sonrasında peritoneal boşluğa yaklaşık 5 mL ılık

serum fizyolojik sıklıdı. Sıvı kaybını önlemek için batın cildi sütürle yaklaştırdı. Bir saatlik iskemiye takiben klemp kaldırıldı ve iki saatlik reperfüzyon periyodu uygulandı. İskemi aortada pulsasyon kaybı, reperfüzyon ise aortada pulsasyon varlığı ile takip edildi. Deneyin sonunda tüm gruplarda sıçanların sol böbrekleri alındı ve %10'luk formaldehit solüsyonu içinde saklandı. İşlem sonrası sıçanlar sakrifiye edildi.

DENEY GRUPLARI

Kontrol Grubu (Grup K) (n=8); standart cerrahi prosedür sonrası, herhangi bir girişim yapılmadan hedeflenen iskemi reperfüzyon süresi tamamlanınca böbrekleri alınan sıçanlar.

İskemi/Reperfüzyon Grubu (Grup İR) (n=8); standart cerrahi prosedür sonrası, iskemi reperfüzyon oluşturulan ve hedeflenen iskemi reperfüzyon süresi tamamlanınca böbrekleri alınan sıçanlar.

İskemi/Reperfüzyon+ C Vitamini Grubu (Grup İR+Vit C) (n=8); standart cerrahi prosedür sonrası iskemi oluşturulan, klemp kaldırılmadan 15 dk önce 50 mg/kg dozunda C vitamini (askorbik asit) (Redoxan® 500 mg/5 mL flakon, Bayer Türk Kimya San. Tic. Ltd. Şti, İstanbul, Türkiye) infüzyonuna başlanan ve reperfüzyon süresi tamamlanınca böbrekleri alınan sıçanlar.

İskemi/Reperfüzyon+Papaverin Grubu (Grup İR+P) (n=8); standart cerrahi prosedür sonrası iskemi oluşturulan, klemp kaldırılmadan 15 dk önce 1,5 mg/kg dozunda papaverin HCl (Papaverin HCl® 0,05 g/2 mL, Galen İlaç Sanayi ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) infüzyonuna başlanan ve reperfüzyon süresi tamamlanınca böbrekleri alınan sıçanlar.

HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Böbrek dokuları ayrı ayrı %10'luk tamponlu nötral formaldehit çözeltisinde fikse edildi. Örneklerden parafin bloklar hazırlanarak mikrotom yardımı ile kesitler alındı ve hematoksilin eozin (H-E) ile boyandı. Histopatolojik inceleme ışık mikroskobu ile yapıldı. Tüm patolojik incelemeler tek bir patoloğ tarafından yapıldı.

HİSTOPATOLOJİK SKORLAMA

Skorlama yapılırken preparatlarda; glomerüler skleroz, fokal glomerüler nekroz, Bowman kapsülü dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübül epitelinde nekroz, tübüler dilatasyon, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon, damar konjesyonu, damar duvar kalınlaşması, interstisyel fibrozis değerlendirildi.

Skorlama; +1: Değişiklik yok; +2: Fokal, hafif; +3: Multifokal, orta; +4: Belirgin, yaygın.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ya da sayı (yüzde) olarak ifade edildi. Verilerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis test kullanıldı. Gruplar arası fark bulunduğunda farklılığın hangileri arasında olduğunu belirlemede Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı. $p < 0,05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi. İstatistiksel analizlerde SPSS 19.0 programı kullanıldı.

BULGULAR

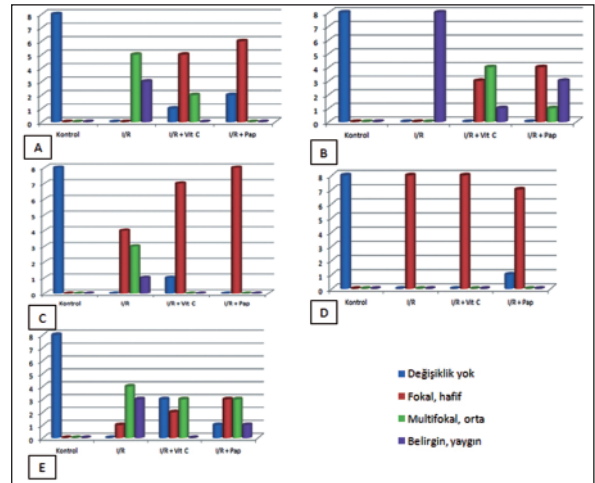
Çalışmamızda kontrol grubunda herhangi bir patolojik durum saptanmadı. İskemi/reperfüzyon (İ/R) grubunda; glomerüler skleroz, fokal glomerüler nekroz, tübül epitelinde nekroz, damar duvar kalınlaşması ve interstisyel fibrozis saptanmaz iken, Bowman kapsülü dilatasyonu beş deneye ait doku kesitinde multifokal-orta, üç denekte belirgin-yaygın olarak saptandı. Tübül epitel dejenerasyonu tüm deneklere ait doku kesitlerinde belirgin-yaygın olarak saptandı. Tübüler dilatasyon dört denekte fokal-hafif, üç denekte multifokal-orta saptanırken, bir denekte belirgin-yaygın olarak saptandı. İnterstisyel inflamatuvar infiltrasyon tüm deneklerde fokal-hafif olarak saptandı. Ayrıca mikroskopik değerlendirmede damar konjesyonu bir denekte fokal-hafif, dört denekte multifokal-orta ve üç denekte belirgin-yaygın saptandı.

İskemi/reperfüzyon+C vitamini (İ/R+Vit C) grubunda; glomerüler skleroz, fokal glomerüler nekroz, tübül epitelinde nekroz, damar duvar kalınlaşması ve interstisyel fibrozis saptanmaz iken, Bowman kapsülü dilatasyonu beş denekte fokal-

hafif saptanırken, iki denekte multifokal-orta saptandı, bir denekte ise değişiklik saptanmadı. Tübül epitel dejenerasyonu üç denekte fokal-hafif, dört denekte multifokal-orta saptandı, bir denekte ise değişiklik saptanmadı. Tübül dilatasyon yedi denekte fokal-hafif olarak saptandı, bir denekte ise değişiklik saptanmadı. İnterstiyel inflamatuvar infiltrasyon tüm deneklerde fokal-hafif olarak saptandı. Damar konjesyonu üç denekte multifokal-orta, iki denekte fokal-hafif saptanırken, üç denekte değişiklik saptanmadı. Gruplara ait histopatolojik değerlendirme sonuçları Tablo 1'de ve grafik olarak Şekil 1'de verilmiştir.

Kruskal Wallis testi ile dört grup birbiriyle karşılaştırıldı. Gruplar arasında glomerüler skleroz, fokal glomerüler nekroz, tübül epitelinde nekroz, damar duvar kalınlaşması ve interstiyel fibrozis açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken, Bowman kapsül dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübül dilatasyon, interstiyel inflamatuvar infiltrasyon ve damar konjesyonu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p<0,001$) (Tablo 2).

Kontrol grubundaki deneklerin hiçbirinde Bowman kapsül dilatasyonu saptanmadı. İ/R grubundaki 5 (%62,5) denekte multifokal-orta ve 3 (%37,5) denekte belirgin-yaygın bowman kapsül dilatasyonu saptandı. İ/R+Vit C grubundaki 1 (%12,5) denekte değişiklik saptanmazken, 5 (%62,5) denekte fokal-hafif ve 2 (%25,0) denekte



ŞEKİL 1: A) Bowman kapsülü dilatasyonu, B) Tübül Epitel Dejenerasyonu, C) Tübül dilatasyon, D) İnterstiyel inflamatuvar infiltrasyon, E) Damar konjesyonu.

İ/R: İskemi/reperfüzyon; İ/R+Vit C: İskemi/reperfüzyon+Vitamin C; İ/R+Pap: İskemi/reperfüzyon+Papaverin.

(Renkli hali için Bkz. <http://www.turkiyeklinikleri.com/journal/cardiovascular-sciences/1306-7656/>)

multifokal-orta değişiklik saptandı. İ/R+Pap grubundaki 2 (%25,0) denekte değişiklik saptanmazken, 6 (%75,0) denekte fokal-hafif Bowman kapsül dilatasyonu saptandı.

Kontrol grubundaki deneklerin hiçbirinde tübül epitel dejenerasyonu saptanmadı. İ/R grubundaki deneklerin hepsinde (%100) belirgin-yaygın tübül epitel dejenerasyonu saptandı. İ/R+Vit C grubundaki 3 (%37,5) denekte fokal-hafif, 4 (%50,0) denekte multifokal-orta ve 1 (%12,5) denekte belirgin-yaygın değişiklik saptandı. İ/R+Pap

TABLO 1: Gruplara ait histopatolojik değerlendirme sonuçları.

Gruplar	Kontrol	İ/R	İ/R+Vit C	İ/R+Pap	p
Glomerüler skleroz	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,000
Fokal glomerüler nekroz	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,000
Bowman kapsülü dilatasyonu	1,00±0,00	3,38±0,51	2,13±0,64	1,75±0,46	<0,001*
Tübül epitel dejenerasyonu	1,00±0,00	4,00±0,00	2,75±0,70	2,88±0,99	<0,001*
Tübül epitelinde nekroz	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,000
Tübül dilatasyon	1,00±0,00	2,63±0,74	1,88±0,35	2,00±0,00	<0,001*
İnterstiyel inflamatuvar infiltrasyon	1,00±0,00	3,25±0,70	2,00±0,92	2,50±0,92	<0,001*
Damar konjesyonu	1,00±0,00	3,25±0,70	2,00±0,92	2,50±0,92	<0,001*
Damar duvar kalınlaşması	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,000
İnterstiyel fibrozis	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,000

İ/R: İskemi/reperfüzyon; İ/R+Vit C: İskemi/reperfüzyon+ C Vitamini; İ/R+Pap: İskemi/reperfüzyon+Papaverin.

*İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,01$).

TABLO 2: İkili gruplar arası istatistiksel analiz.

	Bowman kapsülü	Tübül epitel	İnterstisyel inflamatuvar		
	dilatasyonu	dejenerasyonu	Tübüler dilatasyon	infiltrasyon	Damar konjesyonu
Kontrol-I/R	p<0,0083*	p<0,0083*	p<0,0083*	p<0,0083*	p<0,0083*
Kontrol-I/R+Vit C	p=0,001*	p<0,0083*	p=0,001*	p<0,0083*	p=0,010*
Kontrol-I/R+Pap	p=0,003*	p<0,0083*	p<0,0083*	p=0,001*	p=0,001*
I/R-I/R+Vit C	p=0,003*	p=0,001*	p=0,021*	p=1,000	p=0,015*
I/R-I/R+Pap	p<0,0083*	p=0,010*	p=0,027*	p=0,317	p=0,095
I/R+VitC-I/R+Pap	p=0,199	p=0,866	p=0,317	p=0,317	p=0,320

I/R: İskemi/reperfüzyon; I/R+Vit C: İskemi/reperfüzyon+Vitamin C; I/R+Pap: İskemi/reperfüzyon+Papaverin.

*İstatistiksel olarak anlamlı (p<0,05).

grubundaki 4 (%50) denekte fokal-hafif, 1 (%12,5) denekte multifokal-orta ve 3 (%37,5) denekte belirgin-yaygın tübül epitel dejenerasyonu saptandı.

Kontrol grubundaki deneklerin hiçbirinde tübüler dilatasyon saptanmadı. İ/R grubundaki 4 (%50) denekte fokal-hafif, 3 (%37,5) denekte multifokal-orta ve 1 (%12,5) denekte belirgin-yaygın tübüler dilatasyon saptandı. İ/R+Vit C grubundaki 1 (%12,5) denekte değişiklik saptanmazken, 7 (%87,5) denekte fokal-hafif değişiklik saptandı. İ/R+Pap grubundaki deneklerin hepsinde (%100) fokal-hafif tübüler dilatasyon saptandı.

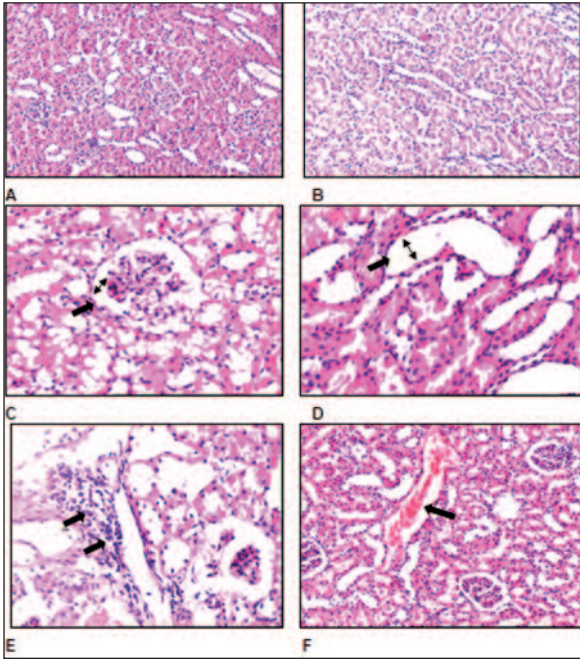
Kontrol grubundaki deneklerin hiçbirinde interstisyel inflamatuvar infiltrasyon saptanmadı. İ/R grubundaki deneklerin hepsinde (%100) fokal-hafif interstisyel inflamatuvar infiltrasyon saptandı. İ/R+Vit C grubundaki deneklerin hepsinde (%100) fokal-hafif değişiklik saptandı. İ/R+Pap grubundaki 1 (%12,5) denekte değişiklik saptanmazken, 7 (%87,5) denekte fokal-hafif interstisyel inflamatuvar infiltrasyon saptandı.

Kontrol grubundaki deneklerin hiçbirinde damar konjesyonu saptanmadı. İ/R grubundaki 1 (%12,5) denekte fokal-hafif, 4 (%50) denekte multifokal-orta ve 3 (%37,5) denekte belirgin-yaygın damar konjesyonu saptandı. İ/R+Vit C grubundaki 3 (%37,5) denekte değişiklik saptanmazken, 2 (%25) denekte fokal-hafif ve 3 (%37,5) denekte multifokal-orta değişiklik saptandı. İ/R+Pap grubundaki 1 (%12,5) denekte değişiklik saptanmazken 3 (%37,5) denekte fokal-hafif, 3 (%37,5) denekte multifokal-orta ve 1 (%12,5) denekte belirgin-yaygın damar konjesyonu saptandı.

İkili gruplar arası istatistiksel değerlendirmede Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı ve p<0,05 değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi (Tablo 2). Böbrek doku kesitlerinde glomerüler skleroz, fokal glomerüler nekroz, tübül epitelinde nekroz, damar duvar kalınlaşması ve interstisyel fibrozis saptanmadığı ve Kruskal Wallis testinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilemediği için değerlendirilmeye alınmadı.

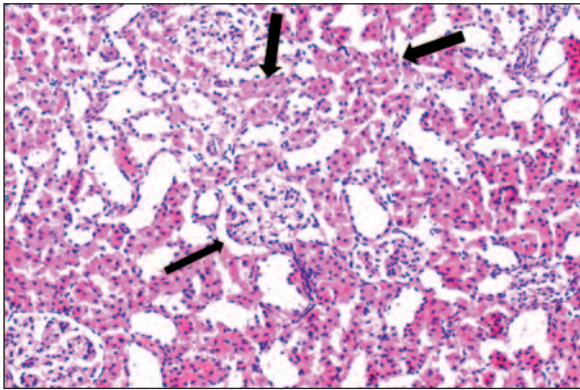
İskemi/reperfüzyon+Vit C grubu ile iskemi/reperfüzyon grubu karşılaştırıldığında; interstisyel inflamatuvar infiltrasyon (p=1,000) için istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Ancak iki grup arasında; Bowman kapsülü dilatasyonu (p=0,003), tübül epitel dejenerasyonu (p=0,001), tübüler dilatasyon (p=0,021) ve damar konjesyonu (p=0,015) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu.

İskemi/reperfüzyon+papaverin grubu ile iskemi/reperfüzyon grubu karşılaştırıldığında; interstisyel inflamatuvar infiltrasyon (p=0,317) ve damar konjesyonu (p=0,095) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Ancak iki grup arasında; Bowman kapsülü dilatasyonu (p<0,0083), tübül epitel dejenerasyonu (p=0,01), tübüler dilatasyon (p=0,027) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu. İskemi/reperfüzyon+Vit C grubu ile iskemi/reperfüzyon+Papaverin grubu karşılaştırıldığında; Bowman kapsülü dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübüler dilatasyon, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon ve damar konjesyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Böbrek doku kesitlerine ait histopatolojik kesitler Şekil 2-4'te verilmiştir.



ŞEKİL 2: A) Normal böbrek dokusu, kontrol grubu (HE, x100), B) İskemi/reperfüzyon grubunda belirgin tübül epitel dejenerasyonu (HE, x100), C) İskemi/reperfüzyon grubunda belirgin Bowman kapsülü dilatasyonu (HE, x200) D) İskemi/reperfüzyon grubunda belirgin tübül dilatasyonu (HE, x200), E) İskemi/reperfüzyon grubunda interstisyel inflamatuvar infiltrasyon (HE, x200) F) İskemi/reperfüzyon grubunda belirgin damar konjesyonu (HE, x100).

(Renkli hali için Bkz. <http://www.turkiyeklinikleri.com/journal/cardiovascular-sciences/1306-7656/>)



ŞEKİL 3: İskemi/reperfüzyon+Vitamin C grubunda minimal Bowman kapsülü dilatasyonu ve hafif tübül epitel dejenerasyonu (HE, x100).

(Renkli hali için Bkz. <http://www.turkiyeklinikleri.com/journal/cardiovascular-sciences/1306-7656/>)

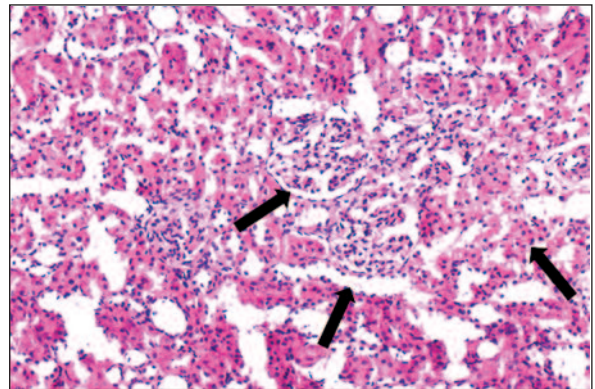
TARTIŞMA

Akut ekstremite iskemisi kollaterallerin gelişmiş olduğu kronik ateroskleroz varlığında bile ciddi mortalite ve morbiditeye yol açabilen klinik bir sorundur. Ekstremitenin reperfüzyonu tam olarak

sağlansa bile ekstremitte kaybına, akut böbrek ve solunum yetmezliğine yol açabilir. Kalp, barsak, beyin, dalak gibi dokularda fonksiyon bozukluğu gelişebilir. Cerrahi müdahalenin gecikmesi bu riskleri daha da artırır.⁵

İskelet kası büyük kütle olması ve iskemik hasara en hassas dokulardan olması nedeniyle alt ekstremitte iskem/reperfüzyon hasarında önemli rol oynar. Reperfüzyon hasarında prognoz kas hasarı miktarına bağlıdır.⁶ İskemi sonrası reperfüzyon şiddetli lokal doku hasarı ve sistemik komplikasyonları beraberinde getirmektedir. Buna bağlı ölüm oranı %25-50, amputasyon ise %15-40 olarak belirtilmiştir.⁷ Bunun nedeni iskeminin kendisinden çok reperfüzyon anında ortaya çıkan toksik metabolitlerdir. Bunlarda majör organlarda mikrovasküler endotel hasarına bağlı geçirgenlik artışı, trombosit agregasyonu ve nekroz alanları oluşmaktadır.⁷

Reperfüzyona bağlı hasarın karakteristik özellikleri; hücresel şişme, hücre iskeleti değişiklikleri ve seçici mikrovasküler geçirgenlik kaybıdır. Bu mekanizmalar doku ödemi ve kapiller kan akımında azalmaya neden olur.⁸ Bizim çalışmamız da bu bilgilerle paralellik göstermiş olup, tespit ettiğimiz Bowman kapsülü dilatasyonu, tübül dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu ve damar konjesyonu, doku ödemi ve kapiller kan akımında azalma sonucu meydana gelmiştir.



ŞEKİL 4: İskemi/reperfüzyon+Papaverin grubunda minimal tübül dilatasyonu, hafif tübül epitel dejenerasyonu, minimal Bowman kapsül dilatasyonu (HE, x100).

(Renkli hali için Bkz. <http://www.turkiyeklinikleri.com/journal/cardiovascular-sciences/1306-7656/>)

Özellikle infrarenal aortaya klemp yerleştirilmesiyle oluşan alt ekstremite iskemisi reperfüzyon sonrası oluşan uzak organ hasarında böbrekler hedef organdır. Kros klemp konulması sonrası renal ve vasküler direnç ile renal kan akımında %30'luk bir düşme görülür. Klemp kaldırıldıktan sonrada, renal hemodinamik bozukluk devam etmektedir. İnfrarenal abdominal aort cerrahisi geçiren hastalarda operasyondan altı ay sonra dahi renal plazma akımı ve glomerüler filtrasyon oranında anlamlı derecede düşüklük bulunmuştur.⁹

İskemi/reperfüzyon hasarı öncelikle böbreğin hipoksiye duyarlı kısmı olan renal medulladan başlar. Renal hasar öncelikle tübülüslerde oluşur. Bunun nedeni iskemiye bağlı gelişen tübüler nekrozdur. Reperfüzyonla birlikte bir-iki hafta içinde tübül fonksiyonları normale dönmektedir.¹⁰

Hayvan deneyleri, hücre ve doku kültürü ile biyokimyasal alanda yapılmış olan birçok çalışma, yeniden oksijenlenmenin zararlı etkileri sonucunda meydana gelen serbest oksijen radikalleri miktarının aşırı derecede artış gösterdiğini, bu durum karşısında da vücutta yer alan serbest oksijen radikalleri tutucu antioksidan savunma mekanizmasının yetersiz kaldığını ve sadece reperfüze olan dokunun yanında tüm vücut organlarını da etkileyebileceğini göstermiştir.¹¹

Sağlıklı bireylerde normal metabolizma sonucunda oluşan serbest oksijen radikalleri vücudun savunma mekanizması olan antioksidan enzim sistemiyle uzaklaştırılır ve oksijen radikalleri, antioksidan savunma mekanizması ile denge halindedir. Bu denge serbest radikallerin lehine bozulursa oksidatif stres oluşur.¹² Serbest oksijen radikalleri aracılığı ile oluşan iskemi/reperfüzyon hasarı lipid peroksidasyonu ile de ilişkilidir. Serbest oksijen radikalleri sadece DNA ve protein düzeyinde zararlı etki göstermemekte, aynı zamanda fosfolipid ve poliansatüre yağ asitlerini içeren hücre membranında geçirgenliği bozarak, hücre içi kalsiyum birikimi ve hücre ölümüne neden olmaktadır.¹¹

Reperfüzyon sonrası iskemik dokuya olan sürekli inflamatuvar hücre göçü, iskemi reperfüzyon hasarına bağlı doku hasarının devamını ve genişlemesini sağlar. Proteolitik enzim (elastaz) ve serbest

oksijen radikalleri sentez ve kapiller seviyede mikrodolaşım tıkanıklığı ile hasara katkıda bulunurlar.¹³

Günümüzde iskemi-reperfüzyon sonrasında ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için süperoksit dismutaz, allopürinol, katalaz, mannitol, C vitamini, alfa tokoferol, L-karnitin, pentoksifilin gibi çeşitli maddeler tedavide denenmiş ve etkili oldukları gösterilmiştir. Bu antioksidan maddelerin ya mikrovasküler permeabilite artışı ve nötrofil akümülyasyonunu önleyerek ya da antioksidan sistemi aktive etmek suretiyle, iskemi reperfüzyon sonrasında ortaya çıkan uzak doku organ hasarına koruyucu etkiye sahip oldukları gösterilmiştir.⁵ Aspirin, glukokortikoidler, altın ve D-penisilamin gibi antiinflamatuvar ilaçların lökosit adezyon molekülü sentezi ve sitokin oluşumunu azalttıkları gösterilmiştir.^{14,15}

Yapılan çok sayıda deneysel hayvan çalışmalarında E vitamini, N-asetil-sistein, allopürinol, demir şelatörleri, kalsiyum kanal blokerleri, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, katalaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidanların tedavide etkinlikleri gösterilmiştir.¹⁶ Bahsedilen birçok tedavi modeli deneysel aşamada olup, insanlardaki klinik kullanımına ait bilgiler henüz yetersizdir.

Deneysel alt ekstremite iskemi reperfüzyon hasarının böbreğe verdiği zarar sıçanlarda çok iyi belirlenmiş ve çalışmaların çoğunda sıçanlar tercih edilmiştir.^{17,18} Bu bilgiler ışığında biz de çalışmamızı S. Dawley cinsi dişi sıçanlar kullanarak yaptık.

Böbreklerde deneysel iskemi reperfüzyon hasarının etkilerinin ortaya çıkması için belli bir iskemi süresine gerek vardır. Sıçan böbreğinde Döşlüoğlu ve ark., 60 dakikalık iskemi süresinden sonra reperfüzyon hasarının ortaya çıktığını göstermişlerdir.¹⁹ Çalışmalarında renal korteks homojenatlarında malondialdehit seviyelerinin yükseldiğini tespit etmişlerdir. Biz de çalışmamızda reperfüzyon hasarını gösterebilmek için 60 dk iskemi ve 120 dk reperfüzyon süresi uyguladık.

Serbest radikallerin reperfüzyon sonrası 15-20 sn içinde hızla oluştuğu gösterildiğinden, reperfüzyon hasarını azaltmak amacıyla radikal yakala-

yıcı kullanılacak ise bunun reperfüzyondan 15 dakika önce verildiğinde efektif olduğu, reperfüzyondan sonra verildiği takdirde hiçbir önleyici özelliğinin olmadığı bilinmektedir.^{1,20} Biz de aortadaki klemp kaldırılmadan 15 dakika önce C vitamini ve papaverin infüzyonuna başlayarak çalışmamızın efektif olmasını sağlamaya çalıştık.

İskemi/reperfüzyon hasarına bağlı gelişen uzak organ hasarına C vitamininin etkileri üzerine birçok çalışma yapılmıştır.^{13,21,22} Sıçanlarda parasetamole, arseniğe, sisplatine ve vankomisine bağlı nefrotoksite modellerinde C vitamininin oksidatif hasarı önleyerek nefron fonksiyonlarını koruyucu etkileri gösterilmiştir.²³⁻²⁵ Papaverinin vazodilatör etkinliği üzerine çok sayıda çalışma yapılmış olmasının yanında iskemi/reperfüzyon hasarına bağlı gelişen uzak organ hasarına yönelik çalışmalar son derece kısıtlıdır. Çalışmamızda iskemi/reperfüzyona bağlı böbrek hasarına, antioksidan özellikleri bilinen C vitamininin ve fosfodiesteraz aktivitesini inhibe ederek cAMP'nin vazodilatör etkisini artırdığı bilinen papaverinin etkilerini araştırmayı hedefledik.

Çalışmamızda histopatolojik incelemede glomerüller skleroz, fokal glomerüller nekroz, tübül epitelinde nekroz, damar duvar kalınlaşması ve interstisyel fibrozis hiçbir grupta saptanmadı. İskemi reperfüzyon grubunda %62,5 multifokal-orta (+3) ve %37,5 belirgin-yaygın (+4) Bowman kapsülü dilatasyonu tespit edildi. %100 oranda belirgin-yaygın (+4) tübül epitel dejenerasyonu; %50 fokal-hafif (+2), %37,5 multifokal-orta (+3) ve %12,5 belirgin-yaygın (+4) tübül dilatasyon saptandı. Ayrıca %100 oranda fokal-hafif (+2) interstisyel inflamatuvar infiltrasyon ve %12,5 fokal-hafif (+2), %50 multifokal-orta (+3), %37,5 belirgin-yaygın (+4) oranda damar konjesyonu tespit edildi. Gülmen ve ark. ile Kiriş ve ark. tarafından yapılan benzer çalışmada, iskemi/reperfüzyon grubuna ait böbrek doku kesitlerinin mikroskopik değerlendirmesinde fokal glomerüller nekroz, Bowman kapsülü dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübül epitelinde nekroz, tübül dilatasyon, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon ve damar konjesyonu; ayrıca iskemi/reperfüzyon grubunda malondialdehit,

süperoksit dismutaz, SOD, katalaz ve miyeloperoksidaz seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı artış saptamışlardır.^{11,26} Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler, diğer yapılmış çalışmalarla benzerlik göstermiş olup, iskemi/reperfüzyon grubu verileriyle kontrol grubunu karşılaştırdığımızda histopatolojik olarak anlamlı farklılıkların olduğunu tespit ettik.

Çalışmamızda karşılaştırdığımız gruplar arasında Bowman kapsülü dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübül dilatasyon, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon ve damar konjesyonu açısından anlamlı farklılıklar mevcuttu.

C vitamini, suda eriyen endojen kaynaklı bir antioksidandır. Hücre içi Ca⁺² birikimini ve SOR hasarını baskılayarak reperfüzyon hasarını azaltır. Membran içindeki ve ekstraselüler sıvılardaki lipid peroksidasyonunu önler, süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onları ortamdaki temizler. Böylece güçlü indirgeyici etkisiyle serbest oksijen radikallerini ortamdaki kaldırarak, sebep oldukları hasarı da önler.^{13,21}

Ambali ve ark. tarafından sıçanlarda yapılan bir çalışmada, organofosfat olan ve tarımda kullanılan klorprifosunun, lipid peroksidasyonunda artışa, hematolojik parametrelerde bozulmaya ve biyokimyasal parametrelerde (alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalin fosfataz, üre, kreatinin) artışa yol açtığını ortaya koymuştur.²⁷ Çalışmaya C vitamini eklendiğinde, klinik, hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde düzelme sağlanmıştır.

Başka bir çalışmada da, C vitamininin alt ekstremite iskemi reperfüzyona bağlı iskelet kası hasarını azalttığı gösterilmiştir.²² Berkan ve ark. tarafından deneysel alt ekstremite iskemi reperfüzyon modeliyle yapılan çalışmada; C vitamininin reperfüzyonun akciğer hasarı üzerine etkileri araştırılmış olup, reperfüzyon hasarını azaltabildiği gösterilmiştir.²¹ Yine Berkan ve ark. tarafından yapılan farklı bir çalışmada, iskemi reperfüzyon sonrası C vitamini verilen sıçanların akciğerinde kontrol grubuna göre polimorfonükleer lökosit, ödem ve konjesyonda azalma olduğu tespit edilmiştir.¹³

Çalışmamızda, C vitamini verilen grupta Bowman kapsülü dilatasyonu, tübül epitel dejeneras-

yonu, tübüler dilatasyon ve damar konjesyonunda anlamlı azalma olduğu ancak interstisyel inflamatuvar infiltrasyonda değişiklik olmadığını tespit ettik.

Elde ettiğimiz sonuçlar yapılmış diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir. C vitamininin güçlü indirgeyici etkisiyle lipid peroksidasyonunu önlemesi, hücre içi Ca^{+2} birikimini ve serbest oksijen radikalleri hasarını baskılayarak böbreklerdeki iskemi/reperfüzyona bağlı hasarın önlenmesinde faydalı olabileceğini göstermektedir. İnterstisyel inflamatuvar infiltrasyonda değişiklik saptanmamasının C vitamininin uygulanan dozuyla ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Bunlara ek olarak C vitamininin endotel koruyucu etki meydana getirerek iskemi/reperfüzyon sonrası böbrek hasarını azatmada etkili olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızın sonuçları bu verilerle paralellik göstermektedir.

Arteriyel vazokonstriksiyon, venlerde vazodilatasyon ile sonuçlanır. Ünal ve ark. sıçanlarda iskemi reperfüzyon hasarında ekzojen verilen nitrik oksitin belirgin koruyucu özellik taşıdığını saptamışlardır.²⁸ Chatterjee ve ark., iskemi reperfüzyon hasarında böbrek fonksiyon bozukluklarının İNOS aktivitesinin baskılanarak azaltılabileceğini bildirmişlerdir.²⁹ Papaverin de fosfodiesteraz aktivitesini inhibe ederek cAMP'nin vazodilatatör etkisini artırır.

Papaverinin vazodilatatör etkisini kanıtlayan çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Kerschner ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, sıçan modelinde topikal vazodilatatör ilaçların mikrovasküler damar çapı üzerindeki etkisine bakılmıştır.³⁰ Sıçanlarda papaverin ve lidokain etkileri karşılaştırılmış, her ikisinin de salin grubuna göre üstün olduğu, etkinin 10 dakikanın üzerinde belirginleştiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda papaverin verilen grupta Bowman kapsülü dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu ve tübüler dilatasyonda anlamlı azalma olduğu tespit ettik.

Elde ettiğimiz sonuçlar bize papaverinin, nitrik oksitte olduğu gibi vazodilatasyon yapıcı etki-

siyle anjiyotensin, katekolaminler ve endotelinin vazokonstrüktör etkilerini ortadan kaldırarak ayrıca hücre içine Ca^{+2} girişini engelleyerek ve endotel koruyucu etki göstererek böbreklerdeki iskemi/reperfüzyona bağlı hasarın önlenmesinde faydalı olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda iskemi/reperfüzyon grubundaki deneklerin hepsinde (%100) fokal-hafif interstisyel inflamatuvar infiltrasyon saptandı. Papaverin verilen gruptaki 1 (%12,5) denekte değişiklik saptanmazken, 7 (%87,5) denekte fokal-hafif interstisyel inflamatuvar infiltrasyon saptandı. Yine iskemi/reperfüzyon grubundaki 1 (%12,5) denekte fokal-hafif, 4 (%50) denekte multifokal-orta ve 3 (%37,5) denekte belirgin-yaygın damar konjesyonu saptanmışken, papaverin verilen gruptaki 1 (%12,5) denekte değişiklik saptanmadı. Üç (%37,5) denekte fokal-hafif, 3 (%37,5) denekte multifokal-orta ve 1 (%12,5) denekte belirgin-yaygın damar konjesyonu saptandı. İnterstisyel inflamatuvar infiltrasyon ve damar konjesyonu istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmese de, sonuçların klinik olarak anlamlı kabul edilebileceği ve papaverin ile ilgili daha detaylı çalışmalar yapılması gerektiği görüşündeyiz.

C Vitamini verilen grup ile papaverin verilen grup karşılaştırıldığında; Bowman kapsül dilatasyonu, tübül epitel dejenerasyonu, tübüler dilatasyon, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon ve damar konjesyonu arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanmadı. İstatistiksel anlamlı bir fark saptanmasa da iskemi/reperfüzyon grubuyla karşılaştırıldığında, C vitamini verilen grupta damar konjesyonun daha az olduğunu söylemek mümkün. Yine papaverinin, C vitaminine göre interstisyel inflamatuvar infiltrasyonu azaltabileceğini söylemek mümkündür.

Sonuç olarak, C vitamini ve papaverin iskemi/reperfüzyona bağlı böbrek hasarını önemli ölçüde azaltmaktadır. Etki mekanizmaları farklı da olsa C vitamini ve papaverinin iskemi/reperfüzyona bağlı böbrek hasarını azaltmada birbirleri arasında istatistiksel bir farklılık saptanmamıştır.

KAYNAKLAR

- Ege T. [Ischemia and reperfusion injury in cardiac and vascular diseases]. Duran E, editör. Kalp ve Damar Cerrahisi. 1. Baskı. İstanbul: Çapa Tıp Kitabevi; 2004. p.197-215.
- Montalvo-Jave EE, Escalante-Tattersfield T, Ortega-Salgado JA, Piña E, Geller DA. Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 2008;147(1):153-9.
- Koksal C, Bozkurt AK, Sirin G, Konukoglu D, Ustundag N. Aprotinin ameliorates ischemia/reperfusion injury in a rat hind limb model. *Vascul Pharmacol* 2004;41(4-5):125-9.
- Gökşin İ, Akbulut M, Baltalarlı A, Saçar M, Kaya Ş, Özcan V, et al. [The effect of normovolemic hemodilution on lung injury after ischemia-reperfusion of lower extremities]. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;14(1):54-8.
- Uysal A, Burma O, Akar İ, Özsin KK, Rahman A, Üstündağ B, et al. [Protective effect of melatonin on lung injury caused by ischemia-reperfusion of the lower extremities]. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;14(4):308-14.
- Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovasc Surg* 2002;10(6):620-30.
- Saba D, Yavuz H, Şenkaya I, Ağrıç M, Dirican M, Serdar Z, et al. [The effects of calcium dobesilate on skeletal muscle ischemia reperfusion injury]. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;8(4):797-801.
- Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997;14(3):195-203.
- Awad RW, Barham WJ, Taylor DN, Woodward DA, Bullen BR. The effect of infrarenal aortic reconstruction on glomerular filtration rate and effective renal plasma flow. *Eur J Vasc Surg* 1992;6(4):362-7.
- Friedewald JJ, Rabb H. Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 2004;66(2):486-91.
- Gülmen Ş, Doğuç DK, Ceylan BG, Çetin NK, Meteöglü İ, Okutan H, et al. [The effect of beta-glucan on kidney injury in experimental aortic ischemia-reperfusion]. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* 2011;19(2):234-41.
- Karaca Ş, Güder H. [Antioxidant system in dermatology]. *Turkish Journal of Dermatology* 2009;3(2):32-9.
- Berkan Ö, Yıldız E, Katrancioğlu N, Gülay İ. [Effect of ascorbic acid in the lung injury caused by ischemia reperfusion of the lower extremities]. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* 2001;9(4):238-41.
- Panés J, Perry M, Granger DN. Leukocyte-endothelial cell adhesion: avenues for therapeutic intervention. *Br J Pharmacol* 1999;126(3):537-50.
- Panés J, Granger DN. Leukocyte-endothelial cell interactions: molecular mechanisms and implications in gastrointestinal disease. *Gastroenterology* 1998;114(5):1066-90.
- Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94(6):1133-8.
- Teruya R, Fagundes DJ, Oshima CT, Brasileiro JL, Marks G, Ynouye CM, et al. The effects of pentoxifylline into the kidneys of rats in a model of unilateral hindlimb ischemia/reperfusion injury. *Acta Cir Bras* 2008;23(1):29-35.
- Aydoğdu N, Kanter M, Yalçın Ö, Taştekin E, Kaymak K. [Effects of L-carnitine on long-term post renal ischemia and reperfusion injury in rat]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2013;33(3):879-87.
- Döşlüoğlu HH, Aktan AO, Yeğen C, Okboy N, Yalçın AS, Yahn R, et al. The cytoprotective effects of verapamil and iloprost (ZK 36374) on ischemia/reperfusion injury of kidneys. *Transpl Int* 1993;6(3):138-42.
- Park JL, Lucchesi BR. Mechanisms of myocardial reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1999;68(5):1905-12.
- Berkan Ö, Yıldız E, Güneç F, Katrancioğlu N, Güney İ, Doğan K. [The effect of pentoxifylline, carnitine and ascorbic acid on improvement of lung injury caused by ischemia-reperfusion]. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;10(2):91-4.
- Saçar M, Özcan V, Aybek H, Önem G, Demir S, Gökşin İ, et al. Vitamin C and iloprost attenuate skeletal muscle injury caused by ischemia-reperfusion of the lower extremities. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;13(4):374-8.
- Antunes LM, Darin JD, Bianchi MD. Protective effects of vitamin c against cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats: a dose-dependent study. *Pharmacol Res* 2000;41(4):405-11.
- Abraham P. Vitamin C may be beneficial in the prevention of paracetamol-induced renal damage. *Clin Exp Nephrol* 2005;9(1):24-30.
- Singh S, Rana SV. Amelioration of arsenic toxicity by L-Ascorbic acid in laboratory rat. *J Environ Biol* 2007;28(2 Suppl):377-84.
- Kiris I, Kapan S, Kilbas A, Yılmaz N, Altuntaş I, Karahan N, et al. The protective effect of erythropoietin on renal injury induced by abdominal aortic-ischemia-reperfusion in rats. *J Surg Res* 2008;149(2):206-13.
- Ambali S, Akanbi D, Igbokwe N, Shittu M, Kawu M, Ayo J. Evaluation of subchronic chlorpyrifos poisoning on hematological and serum biochemical changes in mice and protective effect of vitamin C. *J Toxicol Sci* 2007;32(2):111-20.
- Unal D, Yeni E, Erel O, Bitiren M, Vural H. Antioxidative effects of exogenous nitric oxide versus antioxidant vitamins on renal ischemia reperfusion injury. *Urol Res* 2002;30(3):190-4.
- Chatterjee PK, Patel NS, Kvale EO, Cuzocrea S, Brown PA, Stewart KN, et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int* 2002;61(3):862-71.
- Kerschner JE, Futran ND. The effect of topical vasodilating agents on microvascular vessel diameter in the rat model. *Laryngoscope* 1996;106(11):1429-33.