



**11. Ulusal Hipertansiyon ve Böbrek  
Hastalıkları Kongresi  
13-17 Mayıs 2009 ANTALYA**



**İNFRARENAL AORTİK İSKEMİ-REPERFÜZYON  
SONUCU GELİŞEN RENAL HASARIN  
ÖNLENMESİNDE KARNİTİNİN ROLÜ**

**Şeref Yüksel<sup>1</sup>  
Cevdet Koçoğulları<sup>2</sup>  
Önder Şahin<sup>3</sup>  
Recep Sütçü<sup>4</sup>  
H.Ramazan Yılmaz<sup>5</sup>**

**Efkan Uz<sup>5</sup>  
Yusuf Kara<sup>4</sup>  
Bünyamin Aydın<sup>6</sup>  
Atilla Altuntaş<sup>6</sup>  
M.Tuğrul Sezer<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> SDÜ Tıp Fak İç Hast AD Nefroloji BD  
<sup>2</sup> AKÜ Tıp Fakültesi Kalp Damar Cer AD  
<sup>3</sup> AKÜ Tıp Fak Patoloji AD

<sup>4</sup> SDÜ Tıp Fak Biyokimya AD  
<sup>5</sup> SDÜ Tıp Fak Tıbbi Biyoloji AD  
<sup>6</sup> SDÜ Tıp Fak İç Hast AD

# GİRİŞ

- Abdominal aorta cerrahisi esnasında görülen **İskemi-reperfüzyon (İR) hasarı** kompleks bir olaydır;
  - Sadece iskemiye bağlı alt ekstremitelerde değil,
  - Reperfüzyona bağlı akciğer, böbrek, kalp ve karaciğer gibi uzak organ ve dokularda da gözlenir
- Elektif infrarenal abdominal aorta operasyonlarından sonra akut böbrek disfonksiyonu oldukça sık (%15-%22), ABY ise nispeten daha nadir (%1.8-%4) görülmektedir.\*
- Ancak ABY gelişen hastaların mortalite oranı hala oldukça yüksek (%66)' tir.\*\*

\* Ellenberger C, Schweizer A, Diaper J, et al. Incidence, risk factors, and prognosis of changes in serum creatinine early after aortic abdominal surgery. *Intensive Care Med* 2006;32: 1808

\*\* Braams R, Vossen V, Lisman BAM, et al. Outcome in patients requiring renal replacement therapy after surgery for ruptured and nonruptured aneurysm of the abdominal aorta. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1999;18:323

- İnfrarenal Aortik İskemi Reperfüzyon (AIR) hasarına bağlı ABY gelişmesinde temel mekanizma reperfüzyon olsa da, **iskeminin** de önemli katkısı vardır.\*
- Kros-klemp infrarenal seviyede olsa bile, renal kan akımında azalma meydana gelmektedir.\*\*
- Bu hasarın azaltılmasına yönelik farmakolojik ve cerrahi birçok yöntem geliştirilmesine rağmen bu sorun tamamen giderilememiştir

\* Gamulin Z, Forster A, Morel D, Simonet F, Aymon E, Favre H. Effects of infrarenal aortic cross-clamping on renal hemodynamics in humans. *Anesthesiology* 1984;61: 394-9

\*\* Welch M, Knight DG, Carr HMM, Smyth JV, Walker MG. Influence of renal artery blood flow on renal function during aortic surgery. *Surgery* 1994; 115: 46-51

- **Karnitin**, lipid peroksidasyonunun son ürünlerinin birikimini engelleyen bir antioksidan ajandır.\*
- **Karnitinin koruyucu etkisi;**
  - Selektif olarak renal arter klemplenmesi sonucu böbreklerde oluşan İR hasarında,\*\*
  - Farklı organlarda gelişen İR hasarında,\*\*\*
  - Çeşitli ajanların kullanımına bağlı gelişen renal hasarda,\*\*\*\* gösterilmiştir.
- Bu etkilerinden dolayı karnitini infrarenal AIR modelinde kullanmayı amaçladık.

\* Fabriello RG, Calabrese F. Prevention of ischemia induced increase in MDA by acetyl carnitine. *Ann Neurol* 1988; 24: 114-118

\*\* Gorur S, Bagdatoglu OT, Polat G. Protective effect of L-carnitine on renal ischaemia-reperfusion injury in the rat. *Cell Biochem Funct* 2005; 23: 151-155

\*\*\* Dokmeci D, Inan M, Basaran UN et al. Protective effect of L-carnitine on testicular ischaemia-reperfusion injury in rats. *Cell Biochem Funct* 2007;25(6):611-8

\*\*\*\* Kopple JD, Ding H, Letoha A, Ivanyi B, Qing DP-Y, Dux L et al. L-carnitine ameliorates gentamicin-induced renal injury in rats. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17:2122-31.

# YÖNTEM VE GEREÇLER

## Çalışma Grupları:

Kırk adet Sprague-Dawley tipi erkek ratlar rastgele ve eşit sayıda (n=8) olacak şekilde 5 gruba ayrıldı.

- **Grup I (SHAM):** Laparotomi + Abdominal Aorta (AA) eksplorasyonu + iskemi yok
- **Grup II (Karnitin Kontrol-KK):** AA eksplorasyonu + iskemi yok + operasyondan 15 dk önce 1x200mg/kg dozda i.p karnitin
- **Grup III (İskemi Reperfüzyon-İR):** İR (180 dk, 60dk) + ilaç yok
- **Grup IV (Düşük Doz Karnitin-DDK):** İR (180 dk, 60dk) + 15 dk önce 1x40mg/kg dozda i.p. Karnitin
- **Grup V (YDK):** İR (180 dk, 60dk) + 15 dk önce 1x200mg/kg dozda i.p. karnitin

- **Rat kan örneklerinde BUN, kreatinin ve böbrek doku örneklerinde malondialdehit (MDA) düzeyleri ve süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (KAT) enzim aktiviteleri ölçüldü.**
- **Böbrek doku örnekleri; tübüler nekroz-atrofi, tübüler dejenerasyon, glomerüler hasar, vasküler konjesyon-tromboz ve interstisyel inflamasyon parametreleri yönünden histopatolojik olarak incelendi.**
- **Ayrıca bu parametreler yönünden hasar derecesine göre skorlama yapılarak, HHTS (histolojik hasar toplam skoru) hesaplandı.**

# BULGULAR

## Biyokimyasal Değerlendirmeler

- **Plazma kreatinin düzeyi, İR grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak daha yüksekti.**
- **İR grubunun doku MDA düzeyleri ise; SHAM, KK ve YDK gruplarına göre anlamlı olarak yüksekti.**
- **SOD' un böbrek dokusundaki aktivitesi, AİR grubunda SHAM grubuna göre daha yüksekti.**
- **GPx ve KAT aktiviteleri açısından gruplar arasında fark yoktu.**

Tablo 1: Gruplara ait biyokimyasal değerlendirme sonuçları

	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V	P	
BUN <sup>†</sup>	30.8 (10.6)	28.9 (5.3)	43.5 (14.8)	31.3 (16.8)	37.4 (14.5)	P>0.05	AD
Kreatinin <sup>†</sup>	0.45 (0.07)	0.47 (0.04)	0.64 (0.09)	0.50 (0.13)	0.53 (0.37)	P<0.01	I-III, II-III, III-IV, III-V
MDA <sup>†</sup>	0.64 (0.01)	0.60 (0.14)	0.79 (0.14)	0.54 (0.26)	0.53 (0.10)	P<0.01	I-III, I-V, II-III, II-V, III-V
SOD	5.17±1.10	5.7±0.99	6.55±0.93	6.03±0.76	6.42±0.58	P<0.05	I-III
GPx	68.7±15.3	64.1±7.2	87.7±18.6	84.7±22.0	83.6±15.3	P>0.05	AD
KAT	875.0±569.2	788.3±426.1	1481.2±1258.4	687.9±280.6	906.2±370.3	P>0.05	AD

\*Aksi bildirilmedikçe veriler (ortalama±standart sapma) olarak bildirildi ve karşılaştırmalar için *Tek Yönlü ANOVA testi*, Post Hoc analiz için ise *Tukey's HSD testi* kullanıldı.

† Veriler [ortanca (çeyreklerarası aralık)] olarak gösterildi ve karşılaştırma için *Kruskal-Wallis testi*, iki grup arasındaki farkın belirlenmesinde de *Mann-Whitney U Testi* kullanıldı.

BUN: mg/dl, Kreatinin: mg/dl, MDA: nmol/g protein, SOD: U/mg protein, GPx: U/g protein ve KAT: kg protein AD: Anlamlı Değil.

# Histolojik hasar tipleri açısından grupların karşılaştırılması

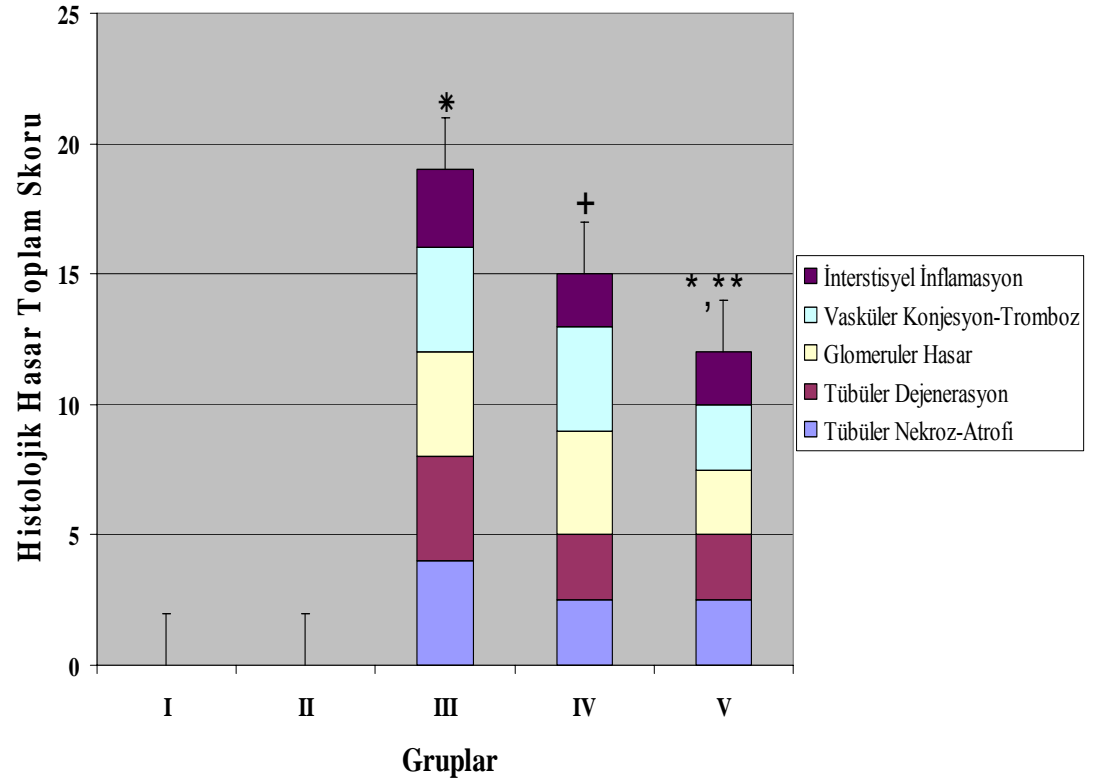
- İR grubu ile karşılaştırdığımızda,
  - DDK grubunda tübüler nekroz-atrofi ve tübüler dejenerasyon ( $p=0.001$ ),
  - YDK grubunda ise; tübüler nekroz-atrofi, tübüler dejenerasyon, glomeruler hasar ve vasküler konjesyon-tromboz anlamlı olarak azdı (sırayla  $p=0.001$ ,  $p=0.001$ ,  $p=0.004$  ve  $p=0.001$ ).
- DDK ile YDK gruplarını karşılaştırdığımızda ise,
  - Glomeruler hasar ve vasküler konjesyon-tromboz değerleri YDK grubunda anlamlı olarak daha düşüktü ( $p=0.008$ ).

# HHTS' nin gruplara göre dağılımı

- HHTS;

- İR grubuna göre DDK ve YDK gruplarında,

- DDK' ya göre YDK grubunda, anlamlı olarak daha düşüktü.

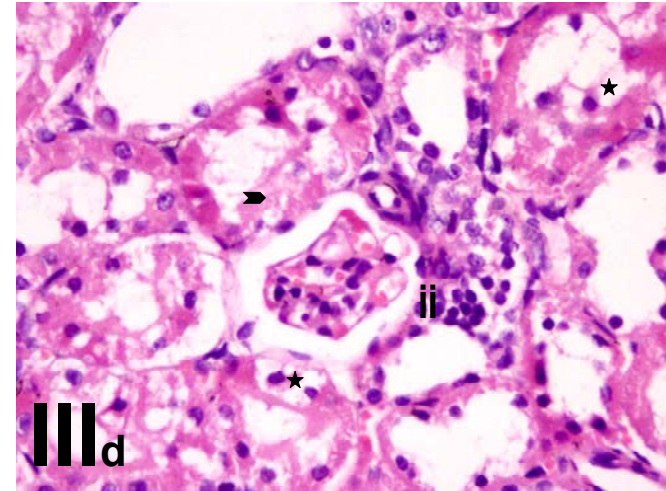
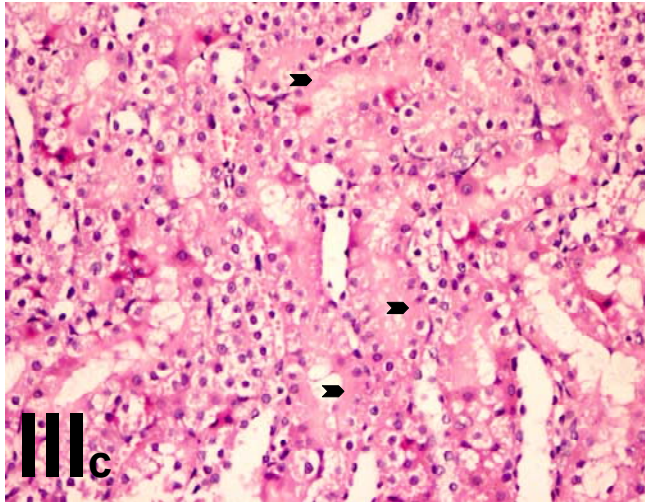
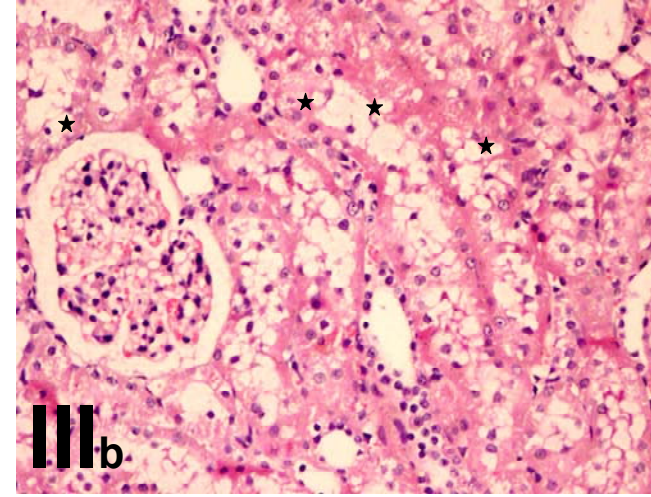
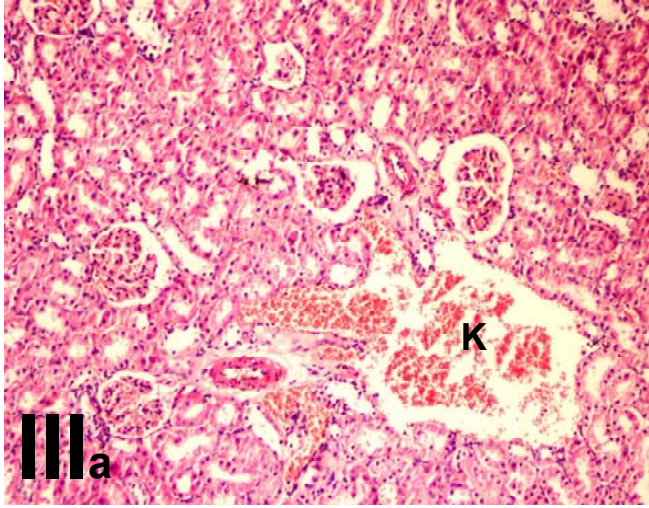


\* P<0.001: I-III, I-V, II-III, II-V, III-V

+ P=0.001: I-IV, II-IV, III-IV

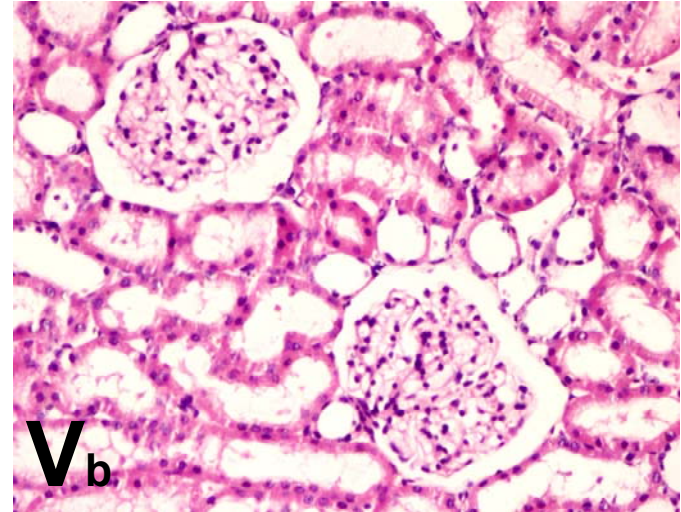
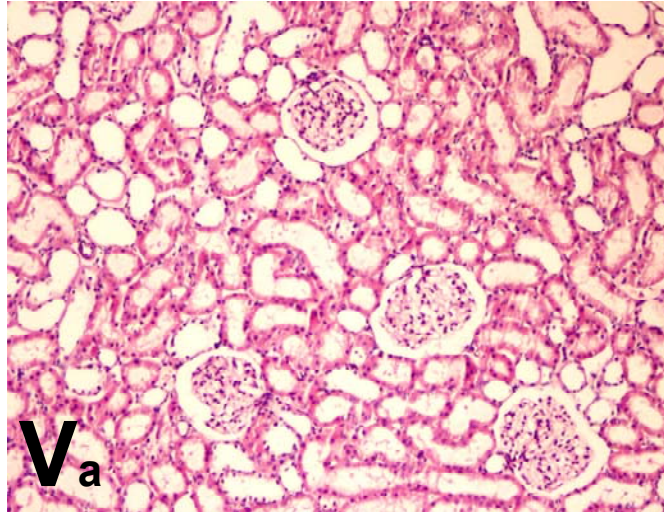
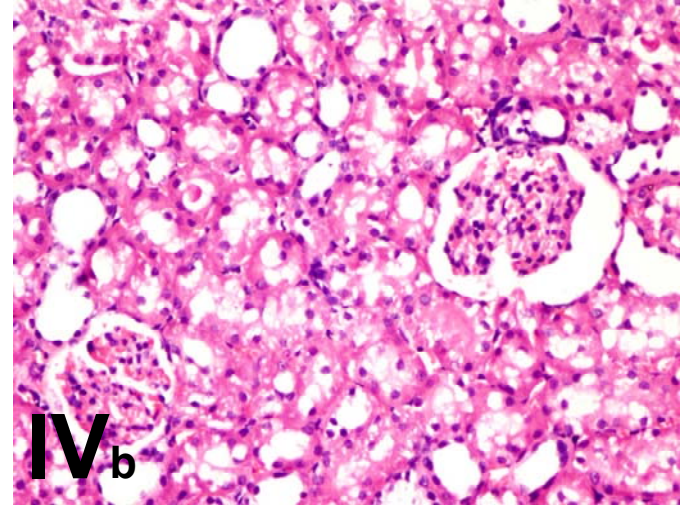
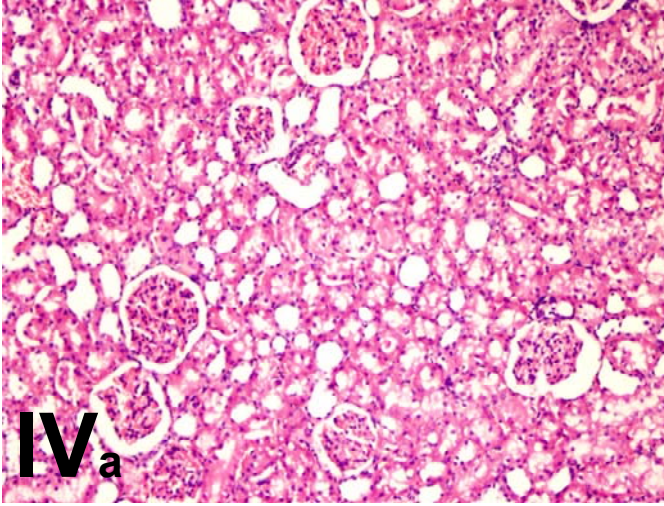
\*\* P=0.013: IV-V

# Gruplara ait böbrek doku örnekleri



Grup III (İR) Böbrek Doku Örnekleri. K: konjesyon, **siyah ok**; Nekroz, **Siyah yıldız**; dejeneratif değişiklikler(Hidropik ve vakuoler ) **ii**; İntersitisyel İnfilamasyon (H&E, X100, 200,200,400).

# Gruplara ait böbrek doku örnekleri



Grup IV (DDK) ve Grup V (YDK) böbrek dokusu örnekleri. Konjesyon, nekroz, dejeneratif değişiklikler (hidropik ve vakuoler ) ve intersitisyel infiltrasyonda DDK grubunda hafif-orta derecede, YDK grubunda ise belirgin azalma (H&E, X100, 200).

# TARTIŞMA

- İR hasarı vasküler cerrahide sıkça karşılaşılan önemli bir sorundur.
- Alt ekstremitelerde gözlenen akut İR hasarı, özellikle aort cerrahisinde abdominal aortaya geçici kros-klomp uygulanmasında ortaya çıkmaktadır.
- İskemik kalan ekstremitede lokal doku hasarı, iskemik alanın dışındaki bölgelerde de uzak organ hasarı oluşabilmektedir.
- Özellikle alt ekstremitelerdeki İR periyodları sonrasında oluşan uzak organ hasarında, böbrekler hedef organ konumundadır ve bu durum klinik olarak önem taşımaktadır.

- Çalışmamızda İR hasarının değerlendirilmesi için biyokimyasal olarak **MDA**, **BUN** ve **kreatinin** ölçümleri kullandık.
- İR hasarı sonucunda serbest oksijen radikalleri aracılığı ile oluşan **lipid peroksidasyonunun** hücre membranı için önemli yıkıcı etkileri vardır.\*
  - Lipid peroksidasyonunun doku ve plazmadaki son ürünü olan **MDA**, günümüzde iskemi reperfüzyon hasarının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır.
  - Yapılan bir çok çalışmada renal İR sonrası serum ve/veya doku **MDA** düzeyinin arttığı gösterilmiştir.\*\*, \*\*\*
- Bizim çalışmamızda serum kreatinin ve doku **MDA** düzeyleri, İR grubunda diğer guruplara göre anlamlı olarak yüksekti.

\* Garcia JJ, Reiter RJ, Guerrero JM, et al. Melatonin prevents changes in microsomal membrane fluidity during induced lipid peroxidation. FEBS Lett 1997; 408(3): 297-300.

\*\* Mister M, Noris M, Szymczuk J, Azzollini N, Aiello S, Abbate M, Trochimowicz L, Gagliardini E, Arduini A, Perico N, Remuzzi G. Propionyl-L-carnitine prevents renal function deterioration due to ischemia/reperfusion. Kidney Int 2002;61:1064-78

\*\*\* Ergun O, Ulman C, Kilicalp AS, Ulman I. Carnitine as a preventive agent in experimental renal ischemia-reperfusion injury. Urol Res 2001; 29: 186-9.

- Karnitinin;
  - Renal İR hasarında,\*
  - Bazı organlarda gelişen İR hasarında,\*\*
  - Çeşitli ajanların kullanımına bağlı oluşan böbrek hasarında,\*\*\* **MDA artışını engellediği** gösterilmiştir.
- Bizim çalışmamızda da literatürlere paralel olarak İR hasarına bağlı oluşan böbrek hasarında **karnitinin MDA artışını engellediğini gözlemledik**
- Bu bulgulardan yola çıkarak;
  - İnfrarenal AIR modelinde karnitinin lipid peroksidasyonunu doza bağımlı olarak kısmen engellediği ve oluşabilecek böbrek hasarının önlenmesinde, bu etkisi ile katkı sağladığını söyleyebiliriz.

\* Mister M, Noris M, Szymczuk J, Azzollini N, Aiello S, Abbate M, Trochimowicz L, Gagliardini E, Arduini A, Perico N, Remuzzi G. Propionyl-L-carnitine prevents renal function deterioration due to ischemia/reperfusion. *Kidney Int* 2002;61:1064-78

\*\* Rahman A, Ustündag B, Burma O, Ozercan IH, Erol FS. Neuroprotective effect of regional carnitine on spinal cord ischemia—reperfusion injury. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2001 Jul;20(1):65-70.

\*\*\* Aleisa AM, Al-Majed AA, Al-Yahya AA et al. Reversal of cisplatin-induced carnitine deficiency and energy starvation by propionyl-L-carnitine in rat kidney tissues. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2007;34: 1252-59

- Bizim bulgularımızla uyumlu olarak çeşitli ajanların koruyucu etkilerinin araştırıldığı
  - Deneysel infrarenal AIR modelinde,\*
  - Renal arter klemplenmesiyle oluşturulan böbrek İR hasarı modelinde,\*\*antioksidan enzimlerden **SOD**'un İR periyodunda anlamlı derecede arttığı gözlemlendi.
- **SOD enzim aktivitesinin İR ile anlamlı olarak artışı, İR' a bağlı olarak artmış serbest oksijen radikallerinin kompensasyonunu düşündürmektedir.**

\* Kiris I, Kapan S, Kilbas A, Yilmaz N, Altuntaş I, Karahan N, Okutan H. The protective effect of erythropoietin on renal injury induced by abdominal aortic-ischemia-reperfusion in rats. J Surg Res. 2008 Oct;149(2):206-13

\*\* Baker GL, Cony RJ, Autor AP. Oxygen free radical induced damage in kidneys subjected to warm ischemia and reperfusion. Ann Surg 1985; 202: 628-41.

- Karnitin uygulaması ile SOD enzim aktivitelerinin değişmemesinin ve gruplar arasında GPx ve KAT enzim aktiviteleri açısından fark olmamasının nedeni:
  - Karnitinin koruyucu etkisinin antioksidan etkinlikten ziyade, iskemik periyotta yağ asitlerinin mitokondriye taşınmasına ve beta-oksidasyona uğramalarına yol açarak alternatif enerji kaynaklarının oluşmasını sağlaması olabilir.

- **Karnitin;**

- Renal arterin klemplenmesi ile oluşturulan İR hasarında,\*
- Böbrek dokusu dışında medulla spinalis, testis gibi organlarda oluşturulan İR hasarında,\*\*
- Çeşitli ajanlara bağlı gelişen renal hasarda,\*\*\*  
oluşan histopatolojik değişiklikleri kısmen önleyebilmektedir.

- **Bizim çalışmamızda HHTS;**

- İR grubuna göre DDK ve YDK gruplarında,
- DDK grubuna göre YDK grubunda,  
anlamlı olarak daha düşüktü.

- **Sonuçta; İR sonrası böbrekte oluşabilecek histopatolojik değişiklikler, karnitin verilmesiyle doza bağımlı olarak azalmış oldu.**

\* Ergun O, Ulman C, Kilicalp AS, Ulman I. Carnitine as a preventive agent in experimental renal ischemia-reperfusion injury. Urol Res 2001; 29: 186-9

\*\* Rahman A, Ustündag B, Burma O, Ozercan IH, Erol FS. Neuroprotective effect of regional carnitine on spinal cord ischemia—reperfusion injury. Eur J Cardiothorac Surg. 2001;20(1):65-70.

\*\*\* Kopple JD, Ding H, Letoha A, Ivanyi B, Qing DP-Y, Dux L et al. L-carnitine ameliorates gentamicin-induced renal injury in rats. Nephrol Dial Transplant 2002; 17:2122-31.

# Sonuç

- Karnitinin, infrarenal AIR sonrası gelişen renal hasarın önlenmesinde etkili olduğunu söyleyebiliriz.
- Karnitinin İR hasarının önlenmesindeki bu yararlı etkisinin kesin mekanizması bilinmemekle birlikte;
  - Karnitinin iskemik süreçte yavaşlayan mitokondriyal enerji üretimini, yağ asitlerinin mitokondrilere transferini ve oksidasyonunu indükleyerek ATP üretimini artırması olabilir.
- Böylece İR periyodunda membran sağlamlığının korunması ve hücre hasarının azaltılması için alternatif enerji kaynakları kullanılabilir.

- **Sonuç olarak;**

- Bu deneysel çalışmada, karnitinin infrarenal AİR modelinde oluşan böbrek hasarını kısmen önleyebildiği gösterilmiştir.

- Bu sonuç bize aortik cerrahi sonrası gelişebilen renal İR hasarının önlenmesinde yeni pencereler açabilir.